Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg

Direktor: Prof. Dr. med. K. Kochsiek

INTRAVENÖSE UND ORALE GALACTOSEBELASTUNG BEI RATTEN MIT ANIT-CHOLESTASE

- Vergleich der Kinetik in vivo mit dem Galactose-metabolismus in der Leber in vitro -

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität-Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Helmut S e i f e r t

aus Selb

Würzburg, 11.Juni 1981

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg

Direktor: Prof. Dr. med. K. Kochsiek

INTRAVENÖSE UND ORALE GALACTOSEBELASTUNG BEI RATTEN MIT ANIT-CHOLESTASE

- Vergleich der Kinetik in vivo mit dem Galactose-metabolismus in der Leber in vitro -

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität-Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Helmut S e i f e r t

aus Selb

Würzburg, 11.Juni 1981

Referent:	Prof. Dr. med. E. Richter
Korreferent:	Prof. Dr. med. K. Kochsiek
Dekan:	Prof. Dr. med. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 27. Juli 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg.

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	ABKÜRZUNGEN	7
III.	MATERIAL	8
IV.	METHODEN	11
	1. Tierhaltung	11
	2. Auslösung der experimentellen Lebererkrankung	11
	3. Galactosebelastung in vivo	11
	4. Galactosemetabolismus in vitro	12
	5. Konzentrationsbestimmungen	17
	6. Berechnungen	17
V.	ERGEBNISSE	20
VI.	DISKUSSION	52
VII.	ZUSAMMENFASSUNG	57
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	59

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543519_0163

I. EINLEITUNG

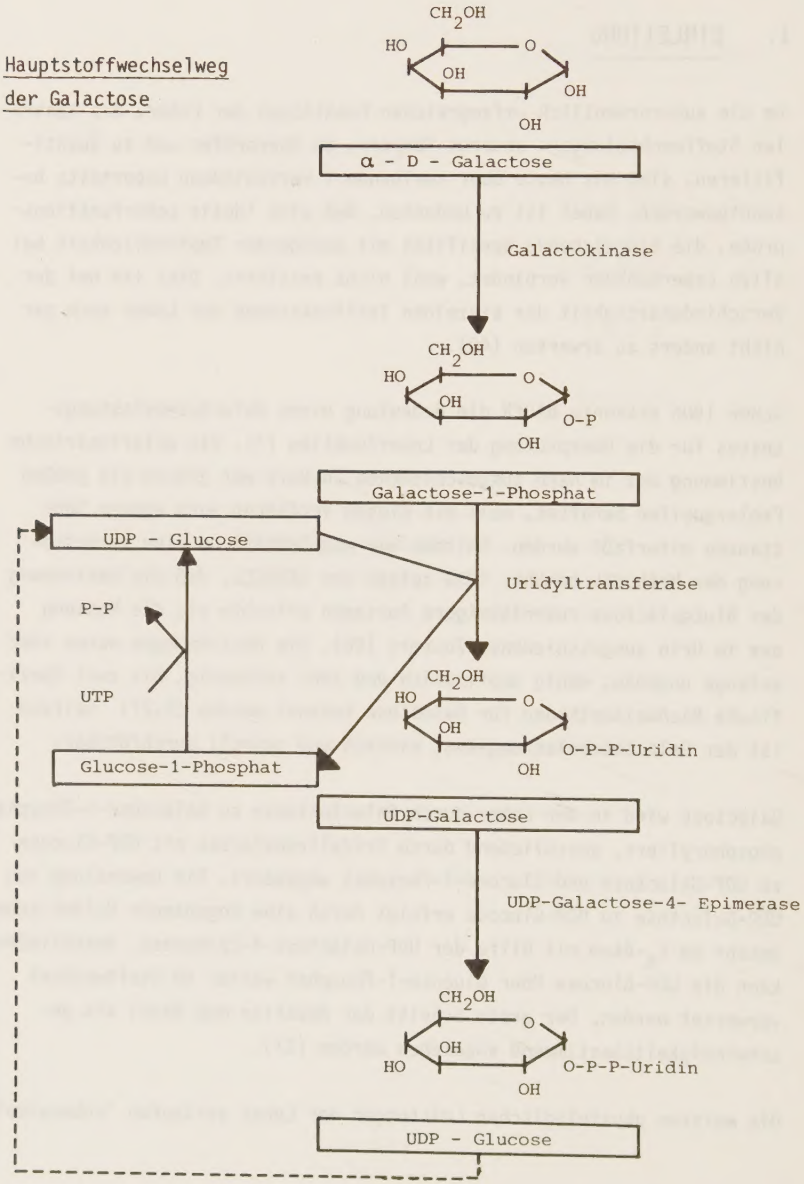
Um die außerordentlich umfangreichen Funktionen der Leber, des zentralen Stoffwechselorgans unseres Körpers, zu überprüfen und zu quantifizieren, sind bis heute über zweihundert verschiedene Lebertests bekanntgeworden. Dabei ist zu bedenken, daß eine ideale Leberfunktionsprobe, die hinreichende Spezifität mit genügender Empfindlichkeit bei allen Leberschäden verbindet, wohl nicht existiert. Dies ist bei der Verschiedenartigkeit der einzelnen Teilfunktionen der Leber auch gar nicht anders zu erwarten (40).

Schon 1906 erkannte BAUER die Bedeutung eines Galactosebelastungstestes für die Überprüfung der Leberfunktion (3). Die polarimetrische Bestimmung des im Harn ausgeschiedenen Zuckers war jedoch mit großen Fehlerquellen behaftet, weil mit diesem Verfahren auch andere Substanzen miterfaßt wurden. Seitdem war man lebhaft um eine Verbesserung der Methodik bemüht. 1939 zeigte von UEXKÜLL, daß die Bestimmung der Blutgalactose zuverlässigere Aussagen erlaubte als die Messung des im Urin ausgeschiedenen Zuckers (56). Die Bestimmungen waren aber solange ungenau, wenig empfindlich und sehr aufwendig, bis zwei spezifische Nachweismethoden für Galactose bekannt wurden (8,27). Seitdem ist der Galactosebelastungstest einfach und schnell durchführbar.

Galactose wird in der Leber durch Galactokinase zu Galactose-1-Phosphat phosphoryliert, anschließend durch Uridyltransferase mit UDP-Glucose zu UDP-Galactose und Glucose-1-Phosphat umgesetzt. Die Umwandlung von UDP-Galactose zu UDP-Glucose erfolgt durch eine sogenannte Walden'sche Umkehr am C_4-Atom mit Hilfe der UDP-Galactose-4-Epimerase. Anschließend kann die UDP-Glucose über Glucose-1-Phosphat weiter im Stoffwechsel verwertet werden. Der erste Schritt der Reaktion muß dabei als geschwindigkeitsbestimmend angesehen werden (21).

Die meisten physiologischen Leistungen der Leber verlaufen "submaximal",

Hauptstoffwechselweg
der Galactose



so daß außergewöhnliche Belastungen durch eine Reservekapazität kompensiert werden können und daher ein geschädigtes Organ oft noch normal zu funktionieren scheint. Dies beeinträchtigt die Aussagefähigkeit einiger anderer Leberfunktionsproben bezüglich des Ausfalls funktionierender Lebermasse. Galactose ist eine Substanz, die ohne nachteilige Nebenwirkungen Substratsättigung ermöglicht. Es kann daher bei der Galactosebelastung davon ausgegangen werden, daß die Kapazität der Leber (funktionierende Lebermasse (Lm)) voll ausgelastet und somit bei einer Parenchymschädigung oder -verminderung reduziert ist (53).

Für klinische Belange wird die Galactosebelastung überwiegend in Form eines oralen Galactosetoleranztestes durchgeführt, wobei nach Applikation von 40 g Galactose der Verlauf der Plasmakonzentrationskurve oder, angeblich ohne Aussageverlust, nur die Galactosekonzentration nach 90 Minuten als Kriterium verwendet werden (17,40,41). Andere Autoren berichten über zuverlässigere Ergebnisse bei Belastung mit 100 g Galactose und Bestimmung des 120-Minuten-Wertes (12,28,32).

Die intravenöse Galactosebelastung mit Berechnung vor allem der GEC (Galactose Elimination Capacity, nach TYGSTRUP) (51-55) wird überwiegend unter experimenteller Fragestellung zur Messung einer quantitativen Leberfunktion durchgeführt (21). Mit dieser Methode sind auch brauchbare Aussagen über die Prognostik (37,58) und die Therapiewirkung bei Lebererkrankungen (5,18) möglich.

Vorzüge der oralen Belastung sind einfache Handhabung mit wenig Komplikationen. Das Testergebnis kann indes vom Darm und von der portalen Strombahn abhängig sein, da ein enteraler und ein hepatischer "first pass effect" für Galactose anzunehmen sind (19,25,42, 48). Auch der zeitliche Verlauf der Magenentleerung kann die Blutgalactosekurve beeinflussen (13,30,31).

Die intravenöse Belastung umgeht dies, erfordert jedoch größeren Aufwand mit der Möglichkeit zu Komplikationen durch Venenreizung, pyrogene Reaktion oder das infundierte Volumen (17). Die Berechnung der GEC ist einfach, erfaßt jedoch einen extrahepatischen Galactoseabbau, der bisher noch nicht quantifiziert werden konnte, mit. Dieser mögliche Fehler dürfte bei der oralen Belastung ebenfalls von Bedeutung sein (19).

Das Ergebnis der oralen Galactosebelastung, wenn es als "orale Clearance" berechnet wird, sollte mit dem Ergebnis der GEC übereinstimmen, soweit die unterschiedlichen Dimensionen berücksichtigt werden. GEC und "orale Clearance" sollten insbesondere in vergleichbarer Weise von der Galactokinaseaktivität der Leber abhängig sein (21,42,44).

In der vorliegenden Arbeit wird geprüft, wieweit bei einer tierexperimentellen Lebererkrankung die Aktivität der Galactokinase in der Leber verändert ist und wieweit diese Veränderungen mit einer oralen oder besser mit einer intravenösen Galactosebelastung abzuschätzen sind.

Als Modell für eine experimentelle Lebererkrankung wurde die durch α-Naphthyl-Isothiocyanat (ANIT) induzierte Cholestase ausgesucht. Diese hat gegenüber dem bekannten Modell der Gallengangsligatur den Vorteil, daß weder die Folgen einer Operation noch die Gefahr einer möglichen bakteriellen Superinfektion zu berücksichtigen sind.

Der Gallefluß sistiert schon 24 Stunden nach ANIT-Applikation fast vollständig. Im Blut kommt es zu einer Erhöhung des Bilirubins, des Cholesterins und der Gallensäuren und zu einem Aktivitätsanstieg der GPT, der alkalischen Phosphatase und der Leuzin-Amino-Peptidase. Das Maximum dieser Veränderungen tritt 72 Stunden nach ANIT-Gabe auf, wobei die Aktivität der alkalischen Phosphatase als sogenanntes Galleenzym am höchsten ist (35,57).

McLEAN u. Mitarb. (29) und ELIAKIM u. Mitarb. (11) führen die durch einmalige Verfütterung von ANIT verursachte Cholestase auf eine intrahepatische Obstruktion durch eine Cholangitis und Cholangiolitis zurück. Das histologische Bild zeigt fokale Nekrosen im Leberläppchen, Zerstörung von Gallegängen, entzündliche Schwellung der Periportalfelder und Anhäufung von Zelltrümmern in den interlobulären Ductuli (16,57). Im Elektronenmikroskop kann man vor allem eine Hypertrophie des glatten endoplasmatischen Retikulums beobachten, außerdem lassen sich eine Schwellung der Mitochondrien, Defekte der Hepatozytenmembran und eine Degeneration der Gallengangsepithelien feststellen (35,43).

Der genaue Mechanismus dieser Veränderungen und der resultierenden Cholestase ist noch nicht ganz aufgeklärt. Angeblich sollen toxische Metaboliten in der Leber für die Schäden in der Zellfunktion verantwortlich sein (10,39). Nach POPPER und SCHAFFNER (36) beruht eine Cholestase auf einer Fehlsteuerung der Sekretion gallesalzhaltiger Mizellen, die von einer Hypertrophie des glatten endoplasmatischen Retikulums ausgeht. Der elektronenoptische Befund (s. o.) und die Feststellung von RICHTER u. Mitarb. (38), daß ANIT-Gabe zu einer Vermehrung der Membranen des glatten endoplasmatischen Retikulums mit gesteigerter Protein- und Lipoproteinsynthese führt, würden für diesen Mechanismus sprechen. Auch PLAA (34) und CLODI (6) führen die Cholestase auf eine Schädigung des gallebildenden Apparates zurück.

Die Ursache der Hyperbilirubinämie dürfte eine Minderung der Speicher- und Exkretionsfähigkeit der Leberzellen sein. ANIT-Tiere können Bilirubin zwar noch konjugieren, aber nicht mehr sezernieren. Zusätzlich wird die schon bestehende Cholestase durch Regurgitation von Galle durch zerstörte Ductuli und durch eine noch ungeklärte Mehrproduktion von Bilirubin nochmals verstärkt (34,43).

Eine Analogie zur menschlichen Pathologie findet sich am ehesten bei der nekrotisierenden Cholangitis, der Vorstufe einer primär biliären Zirrhose (14).

II. ABKÜRZUNGEN

α	Eliminationskonstante
A	fiktive initiale Konzentration
Abb.	Abbildung
ANIT	Alpha-Naphthyl-Isothiocyanat
AP	alkalische Phosphatase
AUC	Area Under Curve
c	Konzentration
Cl	orale Clearance
D	Dosis
EA	Enzymaktivität
Gal	Galactose
GalN	Galactosamin
GEC	Galactose Elimination Capacity
Ges.E.	Gesamteiweiß
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
i.v.	intravenös
KG	Körpergewicht
K_m	Michaeliskonstante
korr	korrigiert
LG	Lebergewicht
M	molar
MW	Mittelwert
n.s.	nicht signifikant
p	Signifikanz der Mittelwertpaardifferenzen
p.o.	per os
r	Korrelationskoeffizient
rel.	relativ
SD	Standard Deviation
t	Zeit
Tab.	Tabelle
UDP	Uridindiphosphat
Upm	Umdrehung pro Minute

III. MATERIAL

Versuchstiere, Tierfutter

Männliche Ratten vom Stamm FW 49 (Dr. K.Thomae, Biberach/Riss, W. Germany)

Altromin^{R}-Standardfutter (Altromin, Lage/Lippe, W. Germany)

Substanzen

Aceton	Aceton zur Analyse, Fa. E. Merck, Darmstadt Artikel Nr. 14
ANIT	α-Naphthyl-Isothiocyanat ($C_{10}H_7NCS$) EGA-Chemie, Steinheim
Äther	Äther zur Narkose Reg. Nr. A 254 Fa. Hoechst AG, Frankfurt
ATP	Adenosintriphosphat, Best. Nr. 126 888 Fa. Boehringer, Mannheim
AP	Alkalische Phosphatase, Best. Nr. 108 138 Fa. Boehringer, Mannheim
Aqua dest.	Ampuwa^{R}, Fa. Fresenius, Bad Homburg
Biuret-Reagenz	eigene Herstellung
D(+)-Galactose	Art. Nr. 4060, Fa. E. Merck, Darmstadt
Galactose-1-Phosphat	Best. Nr. 104 990, Fa. Boehringer, Mannheim
D-Galactosamin-HCl	Hepasamin^{R}, Nr. 7411, Fa. Carl Roth, Karlsruhe
Heparin	Liquemin^{R} 10 000 USP.E./ml, Fa. Hoffmann La Roche, Grenzach-Wyhlen
Humanalbumin	salzarm 20 %, Reg. Nr. H 822, Fa. Behringwerke, Marburg
$MgCl_2$	Art. 5833, Fa. E. Merck, Darmstadt
Monitrol^{R} I	Dade Division LOT No LTD-137 A, American Hospital Supply Corporation, Miami Fl. 33152, USA

2-Mercaptoäthanol	zur Synthese, Fa. E. Merck, Darmstadt Nr. 5740
NaCl-Lösung	Isotonische Kochsalzlösung 9 g/l, Fa. Fresenius, Bad Homburg
NaF	Natriumfluorid zur Analyse, Nr. 6449, Fa. E. Merck, Darmstadt
Olivenöl	Oleum olivea neutralisatum sterilisatum, pH VI, Nr. 193093
Perchlorsäure	0,33 N, Best. Nr. 125 369, Fa. Boehringer, Mannheim
SVT-Puffer	pH 7,4 Saccharose ($2{,}5 \times 10^{-1}$ M) Titriplex III x 2 H_2O (10^{-3}M) Tris (2×10^{-2}M)
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, Art. Nr. 8386, Fa. E. Merck, Darmstadt

Testansätze

Bilirubin	Best. Nr. 123 919, Fa. Boehringer, Mannheim
Galactose	Best. Nr. 124 273, Fa. Boehringer, Mannheim
AP	Merckotest^R, Best. Nr. 3344, Fa. E. Merck, Darmstadt

Sonstiges Arbeitsmaterial

Nahtmaterial	Chromcatgut steril, Nr. 2, Pirastro
Katheter	Teflon 0,5 x 1,0 mm, Fa. Deutsch & Neumann, Berlin
Kanülen	Handelsübliche Einmalkanülen 0,65 x 32 mm

Geräte

Infusionspumpe	Unita I, B. Braun, Melsungen
Photometer	Spektralphotometer DP-Digital, Leitz, Wetzlar
	Eppendorf Photometer 1101 M, Eppendorf Gerätebau, Hamburg
Waagen	Sautter KG, Ebingen
Inkubator	B. Braun, Melsungen
Thermostat	Eppendorf Thermostat 34 d, Eppendorf Gerätebau, Hamburg
Homogenisator	Potter-Elvehjem
	- Ultraschallgerät J-17 A
	Branson Schallkraft AG, Heusenstamm
Zentrifugen	Eppendorf Zentrifuge 3200, Eppendorf Gerätebau, Hamburg
	Sorvall Superspeed RC 2-B, Sorvall Inc., Norwalk, Conneticut, USA
	Hettich Rotanta S, A. Hettich, Tuttlingen

IV. METHODEN

1. Tierhaltung

Die 170 - 230 g schweren, männlichen Wistar-Ratten wurden unter konstanten Raumbedingungen in Käfigen zu je fünf Tieren gehalten. Sie erhielten Altromin^{R}-Standardfutter und Wasser ad libitum.

2. Auslösung der experimentellen Lebererkrankung

Zur Auslösung der ANIT-Cholestase wurde den Tieren 48 Stunden vor Versuchsbeginn 10 mg ANIT/100 g KG (gelöst in 1 ml Olivenöl/100 g KG) über eine Schlundsonde verabfolgt.

3. Galactosebelastung in vivo

Für die intravenöse Galactosebelastung wurde den Tieren in oberflächlicher Äthernarkose ein Polyäthylenkatheter in die Vena und Arteria femoralis vorgeschoben, fixiert und die Operationswunde wieder vernäht. Zur Minderung der Blutgerinnung erhielten die Tiere 250 IE Heparin/kg KG.

Mit Hilfe einer Infusionspumpe wurden innerhalb von 5 Minuten 200 mg Galactose - gelöst in 1 ml Aqua dest. - intravenös verabfolgt und anschließend jeweils zu den angegebenen Zeiten nach Infusionsbeginn (Tab. 8, 9) 50 µl Blut über den arteriellen Katheter entnommen. Während der gesamten Versuchsdauer waren die Versuchstiere wach und in einem Zwangskäfig fixiert. Die letzte Blutentnahme erfolgte nach 90 Minuten.

Vor der oralen Galactosebelastung waren die Tiere mit Wasser ad libitum 24 Stunden nüchtern gesetzt. Über eine Schlundsonde wurden 200 mg,

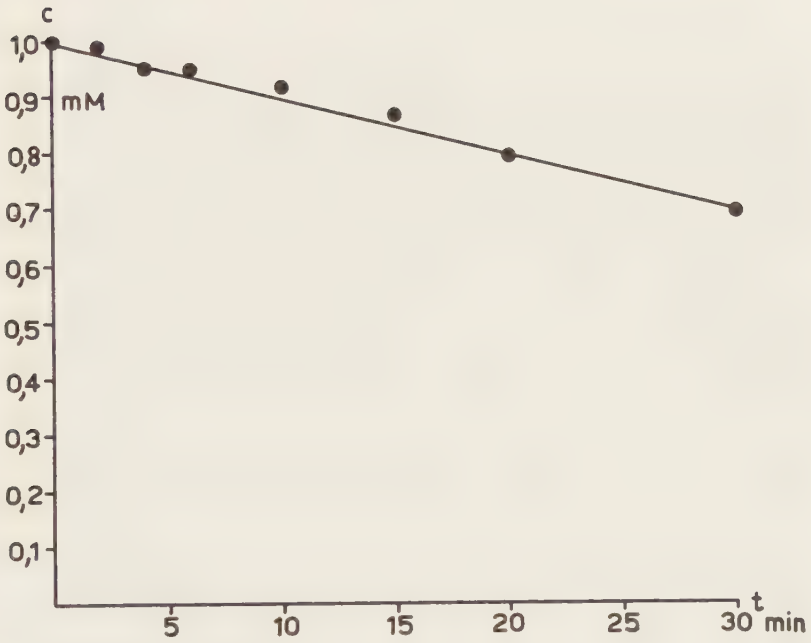
bzw. 400 mg Galactose - gelöst in 1 ml bzw. 2 ml Aqua dest. - oral appliziert und nachfolgend, zu den angegebenen Zeiten nach Beginn der Galactosefütterung, 50 µl Blut aus dem Rattenschwanz entnommen. Während der Versuchsdauer befanden sich die Tiere in ihren Käfigen; die letzte Probenentnahme erfolgte nach 180 bzw. 210 Minuten (Tab. 10, 11, 12, 13).

4. Galactosemetabolismus in vitro

Nach Beendigung der Blutentnahmen wurden die Tiere arteriell entblutet und anschließend die Lebern entnommen und gewogen. Die weitere Aufarbeitung geschah unter ständiger Kühlung bei 0°C, um Aktivitätsverluste der Enzyme zu vermeiden. Jede einzelne Leber wurde mit ca. 30 ml SVT-Puffer im Potter-Elvekjem mechanisch zerkleinert, das erhaltene Homogenat mit weiterem SVT-Puffer bis zu einem Verhältnis von 1:10 verdünnt und anschließend mit Ultraschall 5 x 5 Sekunden lang behandelt. Nach Zentrifugation (2 x 20 min, 12000 Upm, Rotor SS 34, Sorvall) wurde die Galactosekinaseaktivität im Überstand gemessen. Der Testansatz, modifiziert nach SHERMAN und ADLER (45,46),enthielt 0,6 µmol Galactose, 9,0 µmol ATP, 7,5 µmol NaF, 7,5 µmol $MgCl_2$, 15 µmol Mercaptoäthanol, 300 µmol Tris-HCl (pH 7,8) und 100 µl Homogenatüberstand in einem Gesamtvolumen von 600 µl. Bei diesem Ansatz konnte auf die Verwendung radioaktiv markierter Galactose verzichtet werden.

Die Inkubation erfolgte über 30 Min. bei 37°C in Eppendorfgefäßen. Durch Erhitzen auf 95 °C für 5 Min. wurde die Reaktion gestoppt und der Testansatz anschließend 4 Min. zentrifugiert.

Unter diesen Bedingungen liegt die Galactose in einer Konzentration von 1 mM vor und nimmt während der gesamten Versuchsdauer linear ab (Abb. 1).



t (min)	0	2	4	6	10	15	20	30
c (mM)	1,00	0,99	0,95	0,95	0,92	0,87	0,80	0,70

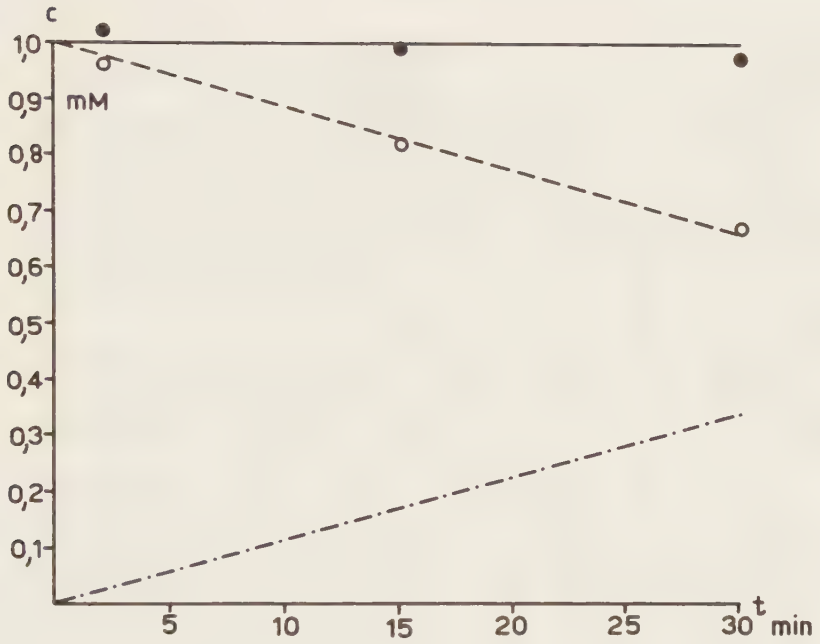
Abb. 1 Konzentrationsabnahme von Galactose mit der Zeit im beschriebenen Inkubationsansatz bei 37°C.

Die Konzentrationsdifferenz gegenüber dem Ausgangswert entspricht der Konzentrationszunahme des durch die Galactokinase gebildeten Galactose-1-Phosphats. Dies konnte wiederum durch Rückführung des Galactose-1-Phosphats in Galactose mit Hilfe der alkalischen Phosphatase und anschließender Messung der Gesamtgalactosekonzentration gezeigt werden. Die Differenz zwischen dieser Gesamtgalactose und der nach Stoppen der Reaktion im Inkubationsansatz vorhandenen Galactose entsprach deshalb dem nach 30 Min. gebildeten Galactose-1-Phosphat (Abb. 2). Die Enzymaktivität konnte somit über das gebildete Reaktionsprodukt als µmol Galactoseumsatz pro Minute berechnet werden.

Wurde das Enzym vor Inkubationsbeginn durch Erhitzen des Homogenats für 5 Min. auf 95°C denaturiert, blieb dieser Galactoseumsatz aus.

Bei Verminderung des eingesetzten Homogenatüberstandes von 100 µl auf 50 µl betrug die Konzentrationszunahme des Galactose-1-Phosphats nach 30 Min. anstatt 0,42 mM nur noch 0,22 mM im Mittel (Abb. 3). Der Galactoseumsatz in vitro ist somit der eingesetzten Enzymmenge proportional.

Um zu überprüfen, ob unter den angegebenen Meßbedingungen Substratsättigung vorliegt, wurde die Galactoseausgangskonzentration verdoppelt bzw. verdreifacht. Hierbei blieb der nach 30 Min. ermittelte Anstieg des phosphorylierten Zuckers innerhalb der Meßgenauigkeit konstant (Abb. 3). Ähnliche Ergebnisse fanden JÄKEL und GRÜN (20) auch bei der Untersuchung der Galactokinase der Schweineleber.



t (min)	2	15	30
c_{Ges} (mM)	1,02	0,99	0,97
c_{Gal} (mM)	0,96	0,82	0,67

Abb. 2 Konzentrationsabnahme der Galactose (----) bzw. Konzentrationszunahme von Galactose-1-Phosphat (-.-.-) mit der Zeit im beschriebenen Inkubationsansatz. Die durchgezogene Linie stellt den Konzentrationsverlauf der Gesamtgalactose nach Rückführung des Galactose-1-Phosphates in Galactose dar.

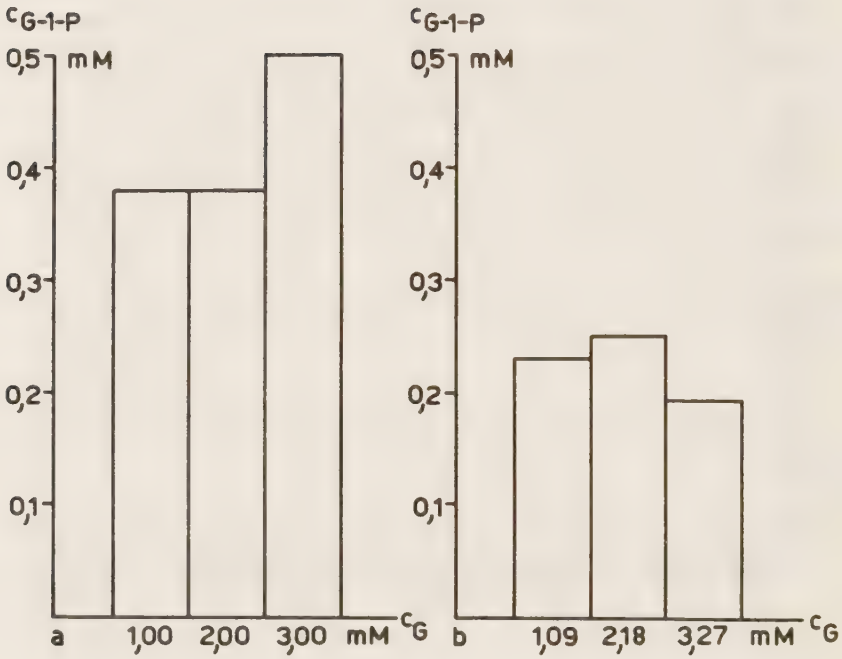


Abb. 3 Gebildetes Galactose-1-Phosphat nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten bei 37°C.

a) 100 µl Enzympräparat, versch. Substratkonzentrationen

b) 50 µl Enzympräparat, versch. Substratkonzentrationen

5. Konzentrationsbestimmungen

Die entnommenen Blutproben wurden mit 250 µl Perchlorsäure (0,33 N) enteiweißt, sofort zentrifugiert (4 Min., Eppendorf Zentrifuge) und der Überstand abpipettiert. Die darin enthaltene Galactose wurde mit Hilfe des Boehringer-Testansatzes gemessen. In den Inkubationsansätzen erfolgte die Bestimmung von Galactose und Galactose-1-Phosphat nach der Methode von GITZELMANN (15).

Nach Beendigung des Galactosetoleranztestes wurde im Serum der Tiere die alkalische Phosphatase und das Gesamtbilirubin mit den angegebenen Testkombinationen bestimmt.

Zur Messung des Gesamteiweißes wurde 50 µl Serum mit 2,5 ml physiologischer Kochsalzlösung und mit 2,5 ml Biuret-Reagenz versetzt. Nach 30 Min. wurde im Eppendorf-Photometer (Filter Hg 546 nm) die Extinktion der Probe gegen den Leerwert gemessen und mit der eines Proteinstandards (Monitrol^{R}) verglichen.

6. Berechnungen

Dosis

Da ein Teil der verabfolgten Galactose während der Versuchsdauer renal eliminiert wird, muß für die Berechnung der hepatischen GEC oder der hepatischen Clearance die Dosis korrigiert werden (D_{Korr}). Dazu wurden jeweils gleich vorbehandelte Tiere in einem getrennten Versuch mit 200 mg Galactose i.v. oder 200 bzw. 400 mg Galactose oral belastet, auf Blutentnahmen verzichtet und nur über 24 Stunden die renale Galactoseausscheidung gemessen (Tab. 1). Jeweils für 1 Kollektiv wurde dann die durchschnittlich im Urin ausgeschiedene Galactosemenge von der verabfolgten Dosis abgezogen.

	KG g	24 h-Urin ml	C_{Gal} im Urin mg/dl	% der appl. Menge	
Ko	200	16,3	451	35,8	
200 mg Gal i.v.	± 5	± 3,5	± 71	± 3,8	
					$p < 0,01$
ANIT	194	16,4	420	29,0	
200 mg Gal i.v.	± 1	± 7,1	± 217	± 4,8	
Ko	172	9,6	709	33,5	
200 mg Gal p.o.	± 1	± 1,6	± 104	± 2,3	
					$p < 0,01$
ANIT	174	18,8	156	13,9	
200 mg Gal p.o.	± 5	± 4,8	± 55	± 3,9	
Ko	178	12,6	1872	41,3	
400 mg Gal p.o.	± 4	± 9,7	± 907	± 9,6	
					n.s.
ANIT	176	16,3	944	32,4	
400 mg Gal p.o.	± 7	± 7,5	± 460	± 7,3	

Tab. 1 Mittelwerte ± SD der biologischen Daten und der im 24 h-Urin ausgeschiedenen Galactosemengen. Vergleich der Kontrollkollektive mit den ANIT-Kollektiven.

Galactoseeliminationskapazität

Aus dem linearen Teil der Plasma-Galactose-Eliminationskurve wurde durch lineare Regression die initiale Konzentration A und die Eliminationskonstante α berechnet.

Die GEC errechnet sich dann als

$$GEC = \frac{D_{Korr}}{A} \cdot \alpha \qquad (\mu mol/min)$$

Weitere Korrekturfaktoren (53) wurden nicht verwendet.

Clearance

Die orale Clearance wurde über die korrigierte Dosis und die Fläche unter der Plasmakonzentrationskurve berechnet.

$$Cl = \frac{D_{Korr}}{AUC} \qquad (ml/min).$$

Die Flächen unter den Plasmakurven wurden durch Ausschneiden und Wiegen ermittelt.

Statistische Berechnungen

Für Signifikanzberechnungen wurde der U-Test nach MANN-WHITNEY verwendet (Hewlett Packard 9815, S-statistical methods, Vol. 3).

V. ERGEBNISSE

In den Tabellen 2, 3 und 4 sind die biologischen Daten und klinisch-chemischen Meßwerte der Kontrolltiere zusammengestellt. Tabelle 2 zeigt das Kollektiv, dem 200 mg Galactose, gelöst in 1 ml Aqua dest., i.v. verabreicht worden ist. Die in Tabelle 3 aufgeführten Tiere haben die gleiche, diejenigen in Tabelle 4 die doppelte Menge Galactose per os über eine Schlundsonde erhalten. Die mit ANIT vorbehandelten Ratten sind in den Tabellen 5, 6 und 7 ebenfalls unter Berücksichtigung der verschiedenen Applikationsformen widergegeben.

Bei den kranken Tieren findet man gegenüber den Kontrollkollektiven einen signifikanten Anstieg des Bilirubins sowie der alkalischen Phosphatase im Serum, was die durch ANIT verursachte Cholestase bestätigt. Die Bestimmung des Gesamteiweißes ergibt keinen eindeutigen Unterschied, hingegen ist bei den ikterischen Tieren das relative Lebergewicht erhöht.

Tabelle 8 enthält die gemessenen Galactoseplasmakonzentrationen zu den angegebenen Blutentnahmezeiten nach i.v. Belastung der Kontrolltiere. In Tabelle 9 sind analog dazu die Meßwerte der kranken Tiere aufgeführt. Bei Berechnung der Mittelwerte sieht man im Bereich bis 30 Min. geringe, nach diesem Zeitpunkt keine Unterschiede mehr zwischen den Versuchskollektiven.

Zur besseren Veranschaulichung dieser Daten sind in Abbildung 4 die Galactosekonzentrationsverläufe eines ausgesuchten Kontrolltieres (Nr. 3) und eines Cholestasetieres (Nr. 1) einander gegenübergestellt.

In beiden Fällen ist nach einer anfänglichen Verteilungsphase von ungefähr 30 Min. Dauer ein linearer Konzentrationsabfall zu beobachten, wobei der Galactoseblutspiegel während der gesamten Meßperiode nicht unter 2 mM abfällt, also sicher im gesättigten Bereich liegt (1,21,59).

Tier Nr.	KG	LG	rel. LG	Bilirubin	AP	Ges.E.
	g	g	g/100 g KG	mg/dl	U/l	g/dl
1	220	10,1	4,59	0,23	666	4,00
2	210	9,2	4,38	0,26	421	3,81
3	220	9,6	4,36	0,27	480	3,99
4	228	10,3	4,52	0,27	573	4,50
5	230	10,5	4,57	0,26	566	3,91
6	215	9,8	4,56	0,30	697	3,99
MW	221	9,9	4,50	0,27	567	4,03
± SD	8	0,5	0,10	0,02	105	0,24

Tab. 2 Biologische Daten und Leberfunktionsproben von sechs Ratten des Kontrollkollektivs nach intravenöser Belastung mit 200 mg Galactose.

Tier Nr.	KG g	LG g	rel.LG g/100 gKG	Bilirubin mg / dl	AP U/l	Ges.E. g/dl
1	188	6,0	3,19	0,38	549	4,27
2	198	6,5	3,28	0,30	317	4,88
3	182	6,2	3,41	0,31	456	4,99
4	182	6,2	3,41	0,36	401	4,77
5	203	6,5	3,20	0,32	339	4,83
6	185	6,0	3,24	0,37	418	4,99
MW	190	6,2	3,29	0,34	413	4,79
± SD	9	0,2	0,10	0,03	84	0,27

Tab. 3 Biologische Daten und Leberfunktionsproben von sechs Ratten des Kontrollkollektivs nach oraler Belastung mit 200 mg Galactose.

Tier Nr.	KG	LG	rel. LG	Bilirubin	AP	Ges.E.
	g	g	g/100 g KG	mg/dl	U/l	g/dl
1	210	7,4	3,52	0,31	563	4,35
2	190	6,2	3,26	0,29	393	4,55
3	200	6,6	3,30	0,24	457	4,35
4	162	5,5	3,40	0,27	502	4,46
5	175	6,1	3,49	0,26	364	3,98
6	180	6,2	3,44	0,39	655	4,26
7	157	5,2	3,31	0,35	548	3,69
8	176	5,6	3,18	0,45	351	4,95
9	168	5,5	3,27	0,29	650	4,46
MW	180	6,0	3,35	0,32	498	4,34
± SD	17	0,7	0,12	0,07	116	0,35

Tab. 4 Biologische Daten und Leberfunktionsproben von neun Ratten des Kontrollkollektivs nach oraler Belastung mit 400 mg Galactose.

Tier Nr.	KG g	LG g	rel. LG g/100 g KG	Bilirubin mg/dl	AP U/l	Ges.E. g/dl
1	169	8,0	4,73	1,08	928	4,68
2	170	9,0	5,29	4,43	1256	4,39
3	163	8,4	5,15	4,00	1456	5,35
4	175	8,7	4,97	5,94	1420	4,13
5	182	8,8	4,84	6,28	1334	4,54
6	178	9,3	5,22	6,91	1256	5,16
MW	173	8,7	5,03	4,77	1275	4,71
± SD	7	0,5	0,22	2,12	189	0,46
	$p < 0,005$	$p < 0,01$	$p < 0,005$	$p < 0,005$	$p < 0,005$	$p < 0,02$

Tab. 5 Biologische Daten und Leberfunktionsproben von sechs Ratten des ANIT-Kollektivs nach intravenöser Belastung mit 200 mg Galactose (die p-Werte beziehen sich auf den Vergleich mit dem entsprechend vorbehandelten Kontrollkollektiv).

Tier Nr.	KG	LG	rel. LG	Bilirubin	AP	Ges.E.
	g	g	g/100 g KG	mg/dl	U/l	g/dl
1	186	8,1	4,35	8,10	1201	5,36
2	184	8,0	4,35	6,91	1365	5,49
3	178	7,7	4,33	5,83	1365	5,49
4	178	7,7	4,33	5,72	1147	5,22
5	183	7,8	4,26	7,02	1019	5,69
6	173	7,4	4,28	7,78	1147	5,76
MW	180	7,8	4,32	6,89	1207	5,50
± SD	5	0,2	0,04	0,98	136	0,20
	$p < 0,1$	$p < 0,005$	$p < 0,005$	$p < 0,005$	$p < 0,005$	$p < 0,005$

Tab. 6 Biologische Daten und Leberfunktionsproben von sechs Ratten des ANIT-Kollektivs nach oraler Belastung mit 200 mg Galactose (die p-Werte beziehen sich auf den Vergleich mit dem entsprechend vorbehandelten Kontrollkollektiv).

Tier Nr.	KG	LG	rel. LG	Bilirubin	AP	Ges.E.
	g	g	g/100 g KG	mg/dl	U/l	g/dl
1	191	7,5	3,93	6,26	1492	4,66
2	178	6,6	3,71	6,48	1765	4,45
3	178	7,4	4,16	7,88	1329	4,41
4	197	7,8	3,96	6,91	1219	4,88
5	166	6,6	3,98	8,10	1274	4,92
6	171	7,0	4,09	7,67	1693	4,75
MW	180	7,2	3,97	7,22	1462	4,68
± SD	12	0,5	0,15	0,77	227	0,21
	n.s.	$p < 0,01$	$p < 0,002$	$p < 0,002$	$p < 0,002$	$p < 0,1$

Tab. 7 Biologische Daten und Leberfunktionsproben von sechs Ratten des ANIT-Kollektivs nach oraler Belastung mit 400 mg Galactose (die p-Werte beziehen sich auf den Vergleich mit dem entsprechend vorbehandelten Kontrollkollektiv).

Dabei ergeben sich beim ANIT-Tier gegenüber dem Kontrolltier zwar geringfügig höhere Werte, der Konzentrationsabfall pro Zeiteinheit (Eliminationskonstante α) ist jedoch im linearen Teil der Kurve annähernd gleich.

In Tabelle 10 finden sich die Galactoseplasmakonzentrationen der Kontrolltiere nach oraler Belastung mit 200 mg Galactose und in Tabelle 11 die entsprechenden Werte der lebergeschädigten Tiere. Hier liegen die Mittelwerte des mit ANIT vorbehandelten Kollektivs zu jedem Zeitpunkt deutlich unter denen des Kontrollkollektivs.

Auch hierzu ist ein ausgewähltes Kontrolltier (Nr. 6) einem Tier mit einer Cholestase (Nr. 2) in Abbildung 5 gegenübergestellt. Die Kurven erreichen zwischen 30 und 60 Min. ihren Gipfel und fallen danach konstant über einen Zeitraum von ungefähr zwei Stunden annähernd auf Null ab. Die Kurvenfläche des ANIT-Tieres ist deutlich kleiner als die des Kontrolltieres, was auf die zu jedem Zeitpunkt niedrigeren Plasmakonzentrationen zurückzuführen ist.

In Tabelle 12 sind die Plasmawerte der Kontrolltiere nach oraler Belastung mit 400 mg Galactose und in Tabelle 13 die entsprechenden Werte der Cholestasetiere zusammengestellt. Die Mittelwerte der kranken Tiere liegen unter denen der Kontrollen, jedoch ist der Unterschied gegen Versuchsende geringer. Die Gegenüberstellung des Kontrolltieres Nr. 9 und des ANIT-Tieres Nr. 6 in Abbildung 6 zeigt eine kleinere Kurvenfläche und einen später erreichten Maximalwert beim kranken Tier.

Die zur Berechnung der GEC benötigten pharmakokinetischen Größen und die AUC sind in Tabelle 14 aufgeführt und die Kontrolltiere den kranken Tieren gegenübergestellt. Auffällig ist die Erhöhung der extrapolierten Anfangskonzentration A bei den ANIT-Tieren. Die Eliminationskonstanten (α) und die Flächen unter den Kurven (AUC) unterscheiden sich nicht.

Tier Nr.	Zeiten der Blutproben nach Infusionsbeginn in Minuten							
	0	5	15	30	45	60	75	90
1	0,0	-	-	4,6	-	2,5	-	0,8
2	0,0	-	-	5,0	-	2,7	-	1,1
3	0,0	12,0	6,8	5,9	4,7	3,8	3,2	2,3
4	0,0	10,2	3,8	4,1	5,4	4,5	4,4	3,9
5	0,0	12,3	6,6	5,2	4,1	3,4	2,7	1,9
6	0,0	13,3	8,4	6,9	6,3	5,6	4,8	4,5
MW	0,0	12,0	6,4	5,3	5,1	3,8	3,8	2,4
± SD	0,0	1,3	1,9	1,0	0,9	1,2	1,0	1,5

Tab. 8 Galactoseplasmakonzentrationen in mmol/l bei sechs Ratten des Kontrollkollektivs nach intravenöser Belastung mit 200 mg Galactose

Tier Nr.	Zeiten der Blutproben nach Infusionsbeginn in Minuten							
	0	5	15	30	45	60	75	90
1	0,0	15,3	8,5	7,1	5,4	4,6	3,7	2,7
2	0,0	17,2	10,9	8,3	6,0	4,7	4,4	3,5
3	0,0	16,3	8,9	6,4	4,7	3,8	3,2	2,7
4	0,0	16,2	9,0	7,5	6,0	5,5	4,8	3,6
5	0,0	14,5	9,2	7,2	6,3	5,6	5,0	-
6	0,0	14,4	8,6	6,1	5,1	3,7	2,7	1,8
MW	0,0	15,7	9,2	7,1	5,6	4,7	4,0	2,9
± SD	0,0	1,1	0,9	0,8	0,6	0,8	0,9	0,7
		$p < 0,02$	$p < 0,02$	$p < 0,02$	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tab. 9 Galactoseplasmakonzentrationen in mmol/l bei sechs Ratten des ANIT-Kollektivs nach intravenöser Belastung mit 200 mg Galactose.

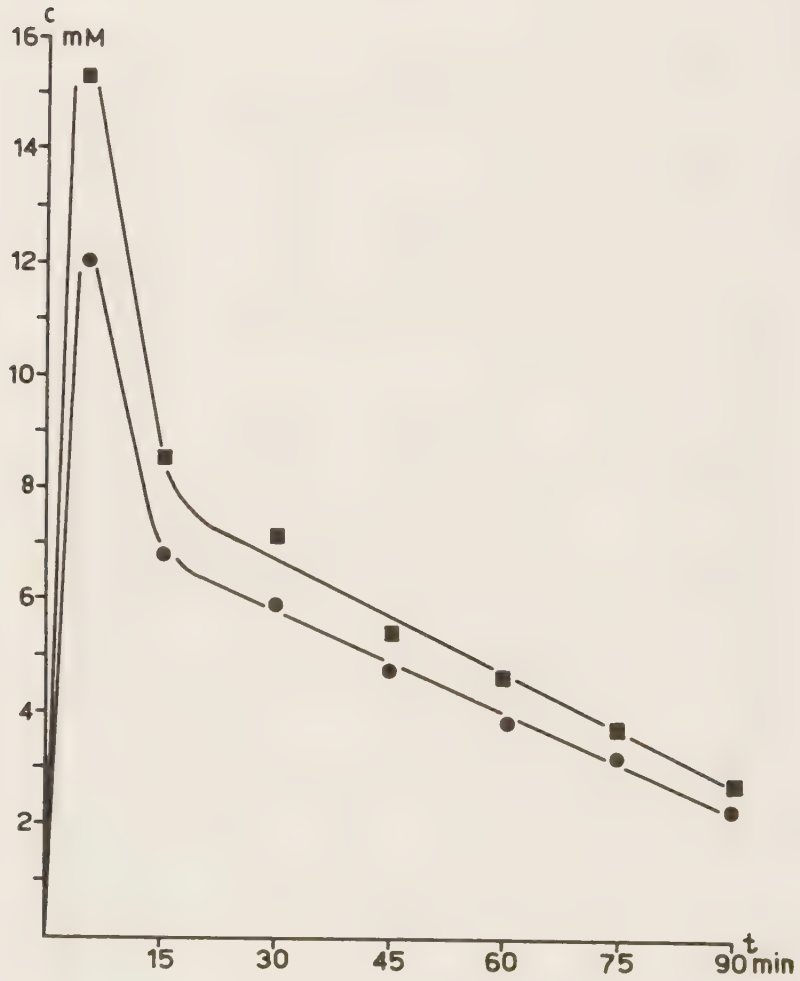


Abb. 4 Galactoseelimination eines ausgewählten Kontrolltieres (Nr. 3 ●) und eines Tieres mit ANIT-Cholestase (Nr. 1 ■) nach intravenöser Belastung mit 200 mg Galactose.

Tier Nr.	Zeiten der Blutproben nach Applikationsbeginn in Minuten							
	15	30	45	60	90	120	150	180
1	0,9	3,2	4,7	4,4	3,9	2,4	1,8	0,4
2	1,0	2,9	3,4	3,6	2,6	1,6	0,6	0,2
3	1,1	3,8	4,2	4,1	3,0	1,5	0,6	0,2
4	1,1	3,3	4,1	4,3	3,5	2,0	1,1	0,2
5	0,8	3,0	3,4	3,6	3,2	1,9	1,0	0,3
6	1,7	2,8	3,9	4,1	3,2	1,9	0,6	0,2
MW	1,1	3,2	4,0	4,0	3,2	1,9	1,0	0,2
± SD	0,3	0,4	0,5	0,3	0,4	0,3	0,5	0,1

Tab. 10 Galactoseplasmakonzentrationen in mmol/l bei sechs Ratten des Kontrollkollektivs nach oraler Belastung mit 200 mg Galactose.

Tier Nr.	Zeiten der Blutproben nach Applikationsbeginn in Minuten							
	15	30	45	60	90	120	150	180
1	0,2	1,0	0,9	0,7	0,3	0,1	0,1	0,1
2	0,4	1,3	1,5	1,5	0,9	0,6	0,4	0,1
3	0,6	2,0	2,1	1,7	0,9	0,4	0,2	0,0
4	0,3	1,1	1,8	1,9	1,6	0,9	0,3	0,2
5	0,2	0,6	0,8	0,9	0,7	0,4	0,1	0,1
6	0,4	1,3	1,7	2,0	1,8	1,4	0,7	0,4
MW	0,4	1,2	1,5	1,5	1,0	0,6	0,3	0,2
± SD	0,2	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,2	0,1
	$p < 0,005$	$p < 0,005$	$p < 0,005$	$p < 0,005$	$p < 0,005$	$p < 0,005$		

Tab. 11 Galactoseplasmakonzentrationen in mmol/l bei sechs Ratten des ANIT-Kollektivs nach oraler Belastung mit 200 mg Galactose.

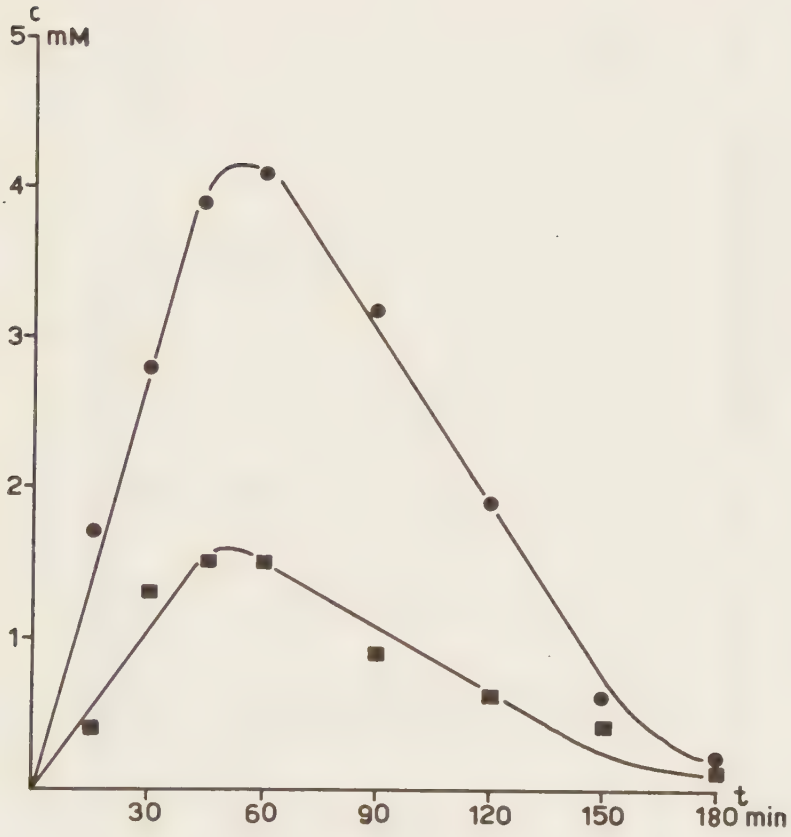


Abb. 5 Galactoseelimination eines ausgewählten Kontrolltieres (Nr. 6 ●) und eines Tieres mit ANIT-Cholestase (Nr. 2 ■) nach oraler Belastung mit 200 mg Galactose.

Tier Nr.	Zeiten der Blutproben nach Applikationsbeginn in Minuten									
	0	15	30	45	60	90	120	150	180	210
1	0,3	-	5,9	-	7,3	6,6	5,3	3,3	2,0	0,6
2	0,2	-	6,0	-	8,7	7,1	6,4	3,9	2,6	1,5
3	0,5	-	6,9	-	7,9	5,0	3,1	2,1	0,9	0,4
4	-	0,3	2,4	4,6	7,0	8,1	7,0	4,9	3,4	-
5	-	1,7	5,1	6,9	8,7	9,7	8,4	6,4	4,8	-
6	-	2,6	6,5	8,2	8,9	8,0	8,1	7,5	6,4	-
7	-	1,8	7,2	8,5	11,6	12,8	9,9	7,1	5,3	-
8	-	0,1	2,8	4,6	6,7	8,9	8,6	7,1	6,0	-
9	-	1,8	5,1	7,9	10,1	10,6	8,1	5,9	4,4	-
MW	0,3	1,4	5,3	6,8	8,5	8,5	7,2	5,4	4,0	0,5
± SD	0,2	1,0	1,7	1,8	1,6	2,3	2,0	1,9	1,9	0,1

Tab. 12 Galactoseplasmakonzentrationen in mmol/l bei neun Ratten des Kontrollkollektivs nach oraler Belastung mit 400 mg Galactose

Tier Nr.	Zeiten der Blutproben nach Applikationsbeginn in Minuten								
	30	45	60	75	90	130	150	170	210
1	1,6	2,0	2,6	2,0	3,2	1,3	2,5	2,6	1,5
2	1,8	4,3	5,4	6,8	6,9	8.0	7,6	7,2	6,2
3	2,8	2,4	3,7	4,8	3,1	2,9	2,5	2,2	1,5
4	0,9	1,1	1,8	2,3	2,5	3,7	3,0	2,3	1,3
5	6,4	6,4	8,2	6,4	7,8	4,8	3,9	2,7	1,1
6	1,4	2,4	3,7	3,8	5,0	4,9	4,2	3,6	2,1
MW	2,5	3,1	4,2	4,4	4,8	4,3	4,0	3,4	2,0
± SD	2,0	1,9	2,3	2,0	2,2	2,3	1,9	1,9	2,2
	$p < 0,05$	$p < 0,02$	$p < 0,01$		$p < 0,02$		n.s.		n.s.

Tab. 13 Galactoseplasmakonzentrationen in mmol/l bei sechs Ratten des ANIT-Kollektivs nach oraler Belastung mit 400 mg Galactose.

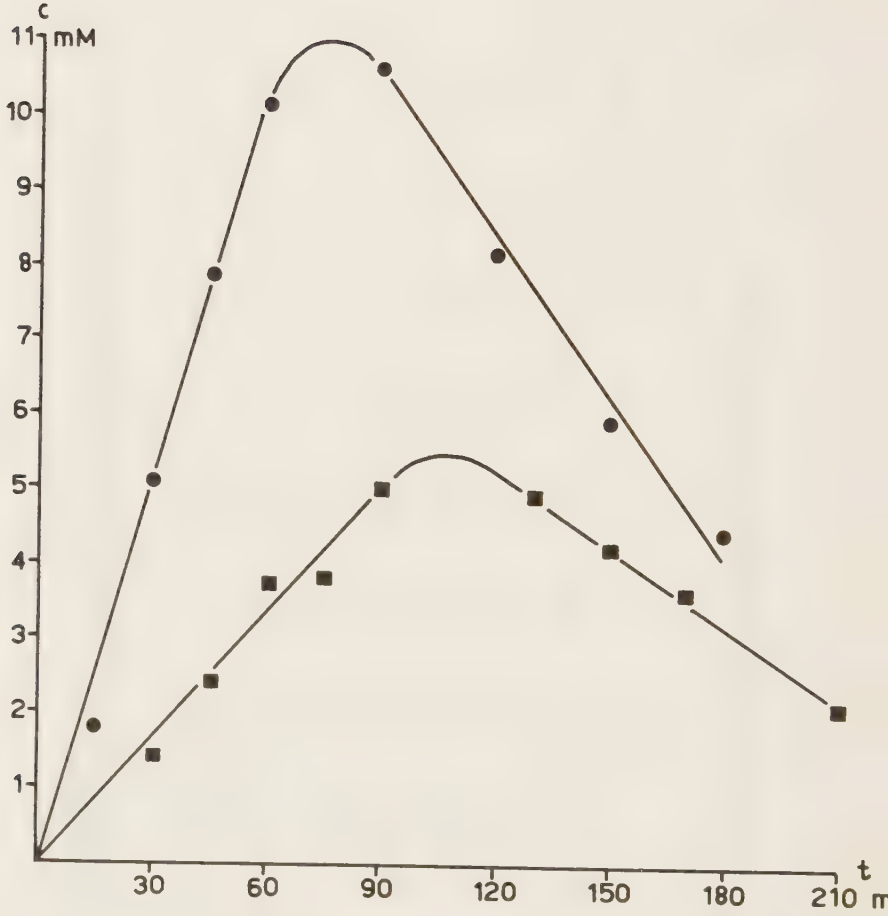


Abb. 6 Galactoseelimination eines ausgewählten Kontrolltieres (Nr. 9 ●) und eines Tieres mit ANIT-Cholestase (Nr. 6 ■) nach oraler Belastung mit 400 mg Galactose.

Tabelle 15 zeigt D_{korr}, AUC, die höchste gemessene Galactoseplasmakonzentration (c_{max}) und die Zeit, zu der dieser Wert bestimmt worden ist (t_{max}) bei der oralen Belastung mit 200 mg und Tabelle 16 die entsprechenden Werte bei oraler Belastung mit 400 mg Galactose. AUC und c_{max} sind bei den Tieren mit ANIT-Cholestase deutlich niedriger, die t_{max}-Werte unterscheiden sich jedoch nicht signifikant voneinander (vergl. Abb. 5 und 6). Die Ursache der geringeren Galactoseplasmakonzentration bei den ikterischen Tieren ist nicht bekannt.

Tabelle 17 enthält die bei intravenöser Belastung berechnete GEC und die dazugehörige in vitro gemessene Enzymaktivität. Die Kontrollen auf der linken Hälfte werden den kranken Tieren auf der rechten Seite gegenübergestellt. Die ersten beiden Spalten geben die GEC des jeweiligen Tieres und die gesamte in der Leber enthaltene Enzymaktivität wieder, in Spalte 3 und 4 sind diese Daten auf das Körpergewicht, in Spalte 5 und 6 auf das Lebergewicht bezogen. In gleicher Weise aufgegliedert finden sich in Tabelle 18 die bei oraler Belastung mit 200 mg Galactose berechnete Clearance und die dazugehörige Enzymaktivität, in Tabelle 19 die entsprechenden Werte für die Galactosebelastung mit 400 mg. Interessant ist hierbei, daß die bei der i.v.-Belastung berechnete GEC und die Enzymaktivität die gleiche Dimension haben und sich auch annähernd in der gleichen Größenordnung bewegen.

Zur Veranschaulichung der in den Tabellen 17, 18 und 19 aufgelisteten Daten und den sich daraus ergebenden Unterschieden zwischen den einzelnen Kollektiven dienen die folgenden Abbildungen 7 und 8. Sie vergleichen direkt die bei den verschiedenen Tiergruppen gemessenen Werte für die GEC, orale Clearance und Enzymaktivität. In Abbildung 7 sind alle Parameter auf das Körpergewicht, in Abbildung 8 auf das Lebergewicht bezogen.

Tier Nr.	Kontrolle 200 mg Gal i.v.				ANIT-Cholestase 200 mg Gal i.v.			
	D_{korr} mmol	A $\frac{mmol}{l}$	α $\frac{mmol}{l \cdot min}$	AUC $\frac{mmol \cdot min}{ml}$	D_{korr} mmol	A $\frac{mmol}{l}$	α $\frac{mmol}{l \cdot min}$	AUC $\frac{mmol \cdot min}{ml}$
1	0,71	6,36	0,062	0,37	0,79	8,89	0,070	0,60
2	0,71	6,87	0,066	0,40	0,79	9,86	0,075	0,71
3	0,71	7,46	0,058	0,52	0,79	7,72	0,059	0,57
4	0,71	6,62	0,031	0,76	0,79	9,08	0,060	0,73
5	0,71	6,66	0,053	0,48	0,79	8,58	0,049	0,74
6	0,71	8,14	0,042	0,85	0,79	8,28	0,073	0,51
MW		7,02	0,052	0,56		8,74	0,064	0,64
± SD		0,66	0,013	0,20		0,73	0,010	0,10
						$p < 0,01$	n.s.	n.s.

Tab. 14 Korrigierte Dosis (D_{korr}), extrapolierte Anfangskonzentration (A), Eliminationskonstante (α) und "Area Under Curve" (AUC) der beiden Versuchskollektive nach intravenöser Belastung mit 200 mg Galactose.

Tier Nr.	Kontrolle 200 mg Gal p.o.				ANIT-Cholestase 200 mg Gal p.o.			
	D_{korr}	AUC	c_{max}	t_{max}	D_{korr}	AUC	c_{max}	t_{max}
	mmol	$\frac{mmol \cdot min}{ml}$	$\frac{mmol}{l}$	min	mmol	$\frac{mmol \cdot min}{ml}$	$\frac{mmol}{l}$	min
1	0,74	0,46	4,7	45	0,96	0,07	1,0	30
2	0,74	0,30	3,6	60	0,96	0,13	1,5	45
3	0,74	0,33	4,2	45	0,96	0,16	2,1	45
4	0,74	0,40	4,3	60	0,96	0,17	1,9	60
5	0,74	0,36	3,6	60	0,96	0,08	0,9	60
6	0,74	0,36	4,1	60	0,96	0,28	2,0	60
MW		0,37	4,1	55		0,15	1,6	50
± SD		0,06	0,4	8		0,08	0,5	12
						$p < 0,005$	$p < 0,005$	n.s.

Tab. 15 Korrigierte Dosis (D_{korr}), "Area Under Curve" (AUC), maximale gemessene Plasmakonzentration (c_{max}) und die dazugehörige Blutentnahmezeit (t_{max}) der beiden Versuchskollektive nach oraler Belastung mit 200 mg Galactose.

Tier Nr.	Kontrolle 400 mg Gal p.o.				ANIT-Cholestase 400 mg Gal p.o.			
	D_{korr} mmol	AUC $\frac{mmol \cdot min}{ml}$	c_{max} $\frac{mmol}{l}$	t_{max} min	D_{korr} mmol	AUC $\frac{mmol \cdot min}{ml}$	c_{max} $\frac{mmol}{l}$	t_{max} min
1	1,31	0,95	7,3	60	1,50	0,57	3,2	90
2	1,31	1,08	8,7	60	1,50	2,13	8,0	130
3	1,31	0,82	7,9	60	1,50	0,63	4,8	75
4	1,31	1,09	8,1	90	1,50	0,46	3,7	130
5	1,31	1,43	9,7	90	1,50	1,04	8,2	60
6	1,31	2,50	8,9	60	1,50	0,81	5,0	90
7	1,31	1,88	12,8	90				
8	1,31	1,67	8,9	90				
9	1,31	1,48	10,6	90				
MW		1,43	9,2	77		0,94	5,5	96
± SD		0,53	1,7	16		0,62	2,1	29
						$p < 0,05$	$p < 0,01$	n.s.

Tab. 16 Korrigierte Dosis (D_{korr}), "Area Under Curve" (AUC), maximale gemessene Plasmakonzentration (c_{max}) und die dazugehörige Blutentnahmezeit (t_{max}) der beiden Versuchstierkollektive nach oraler Belastung mit 400 mg Galactose.

Tier Nr.	Kontrolle 200 mg Gal i.v.						ANIT-Cholestase 200 mg Gal i.v.					
	GEC	EA	GEC 100gKG	EA 100gKG	GEC gLG	EA gLG	GEC	EA	GEC 100gKG	EA 100gKG	GEC gLG	EA gLG
1	6,94	6,67	3,16	3,03	0,69	0,66	6,23	6,24	3,69	3,69	0,78	0,78
2	6,80	8,28	3,24	3,94	0,74	0,90	6,00	7,02	3,53	4,13	0,67	0,78
3	5,51	6,91	2,51	3,14	0,57	0,72	6,02	6,55	3,69	4,02	0,72	0,78
4	3,32	5,56	1,46	2,44	0,32	0,54	5,22	2,61	2,98	1,49	0,60	0,30
5	5,67	5,67	2,47	2,47	0,54	0,54	4,51	4,75	2,48	2,61	0,51	0,54
6	3,65	5,88	1,70	2,73	0,37	0,60	6,94	6,14	3,90	3,45	0,75	0,66
MW	5,32	6,50	2,42	2,96	0,54	0,66	5,82	5,55	3,38	3,23	0,67	0,64
± SD	1,53	1,03	0,73	0,56	0,17	0,14	0,85	1,63	0,54	1,01	0,10	0,19

Tab. 17 Galactoseeliminationskapazität (GEC) in µmol/min und Enzymaktivität in der Leber in vitro (EA) in µmol/min der beiden Versuchskollektive nach intravenöser Belastung mit 200 mg Galactose.

	Kontrolle 200 mg Gal p.o.						ANIT-Cholestase 200 mg Gal p.o.					
Tier Nr.	Cl	EA	Cl 100gKG	EA 100gKG	Cl gLG	EA gLG	Cl	EA	Cl 100gKG	EA 100gKG	Cl gLG	EA gLG
1	1,61	5,40	0,86	2,87	0,27	0,90	13,71	6,80	7,37	3,66	1,69	0,84
2	2,47	5,46	1,25	2,76	0,38	0,84	7,38	6,24	4,01	3,39	0,92	0,78
3	2,24	5,21	1,23	2,86	0,36	0,84	6,00	6,93	3,37	3,89	0,78	0,90
4	1,85	4,84	1,02	2,66	0,30	0,78	5,65	6,01	3,17	3,38	0,73	0,78
5	2,10	4,68	1,03	2,31	0,32	0,72	12,00	6,08	6,56	3,32	1,54	0,78
6	2,10	4,68	1,14	2,53	0,35	0.78	3,43	3,55	1,98	2,05	0,46	0,48
MW	2,06	5,05	1,09	2,67	0,33	0,81	8,03	5,94	4,41	3,28	1,02	0,76
± SD	0,30	0,36	0,15	0,22	0,04	0,06	3,98	1,23	2,10	0,64	0,49	0,15

Tab. 18 Orale Clearance (Cl) in ml/min und Enzymaktivität in der Leber in vitro in µmol/min der beiden Versuchskollektive nach oraler Belastung mit 200 mg Galactose.

Tier Nr.	Kontrolle 400 mg Gal p.o.						ANIT-Cholestase 400 mg Gal p.o.					
	Cl	EA	Cl / 100gKG	EA / 100gKG	Cl / gLG	EA / gLG	Cl	EA	Cl / 100gKG	EA / 100gKG	Cl / gLG	EA / gLG
1	1,38	4,88	0,66	2,32	0,19	0,66	2,63	3,60	1,38	1,88	0,35	0,48
2	1,21	4,84	0,64	2,55	0,20	0,78	0,70	-	0,39	-	0,11	-
3	1,59	5,54	0,80	2,77	0,24	0,84	2,38	5,33	1,37	2,99	0,32	0,72
4	1,20	4,62	0,74	2,85	0,22	0,84	3,26	7,02	1,66	3,56	0,42	0,90
5	0,92	4,76	0,53	2,72	0,15	0,78	1,44	5,15	0,87	3,10	0,22	0,78
6	0,52	2,23	0,29	1,24	0,08	0,36	1,85	5,04	1,08	2,95	0,26	0,72
7	0,70	4,37	0,45	2,78	0,14	0,84						
8	0,79	7,06	0,45	4,01	0,14	1,26						
9	0,89	5,28	0,53	3,14	0,16	0,96						
MW	1,02	4,84	0,56	2,71	0,17	0,81	2,04	5,23	1,13	2,90	0,28	0,72
± SD	0,35	1,26	0,16	0,73	0,05	0,24	0,91	1,22	0,45	0,62	0,11	0,15

Tab. 19 Orale Clearance (Cl) in ml/min und Enzymaktivität in der Leber *in vitro* (EA) in µmol/min der beiden Versuchskollektive nach oraler Belastung mit 400 mg Galactose.

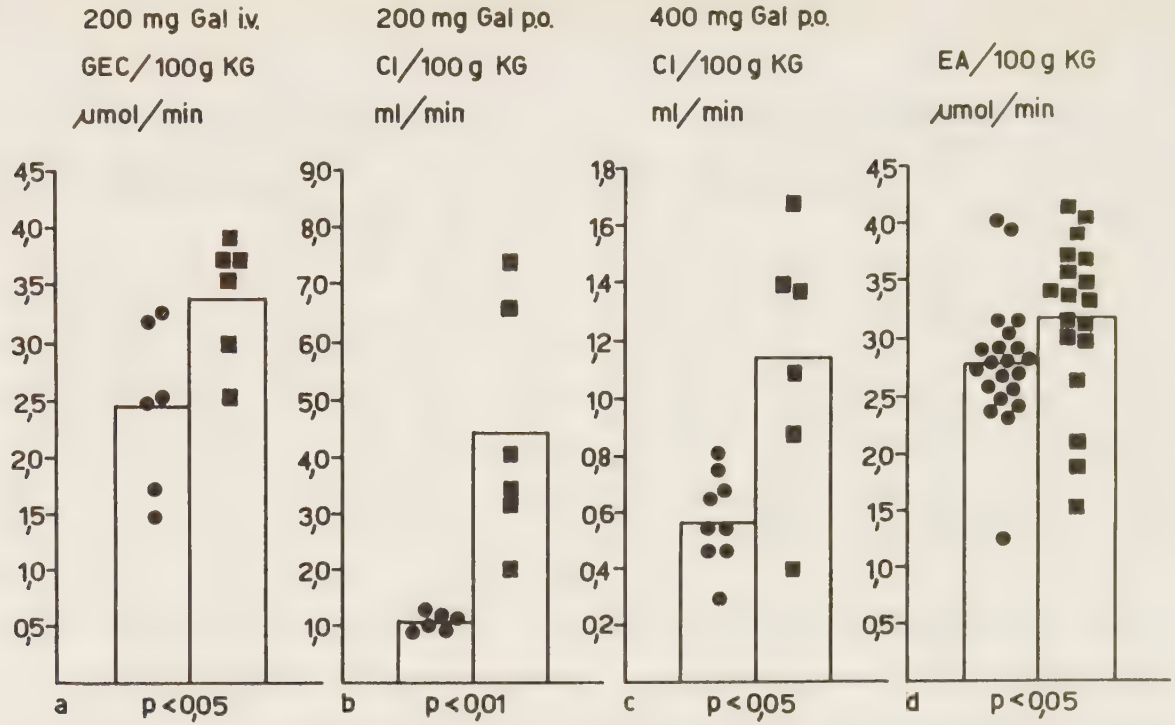


Abb. 7 Vergleich von GEC, oraler Clearance und Enzymaktivität in vitro pro 100 Gramm Körpergewicht von Kontrolltieren (●) und Tieren mit ANIT-Cholestase (■).

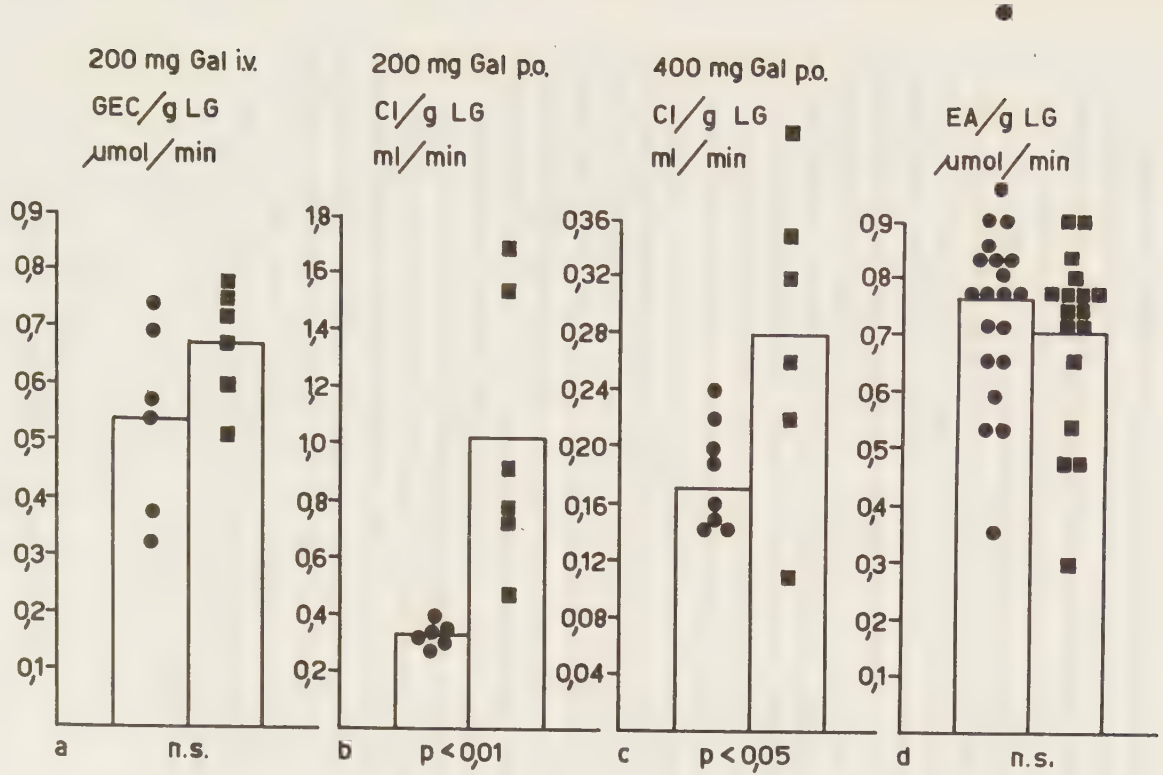


Abb. 8 Vergleich von GEC, oraler Clearance und Enzymaktivität in vitro pro Gramm Lebergewicht von Kontrolltieren (●) und Tieren mit ANIT-Cholestase (■).

Abbildung 7 a zeigt, daß die GEC/100 g KG bei ANIT-Tieren erhöht ist ($p < 0,05$), die einzelnen Meßwerte streuen jedoch stark und überschneiden sich teilweise mit denen des Kontrollkollektivs. Bei oraler Belastung mit 200 mg Galactose ist bei den kranken Ratten, wie aus Abbildung 7 b ersichtlich, die Clearance signifikant erhöht. Dieser deutliche Unterschied ($p < 0,01$) ist auf die geringe Streuung innerhalb des Kontrollkollektivs und im Vergleich dazu die teilweise extrem hohen Clearancewerte beim ANIT-Kollektiv zurückzuführen. Ähnlich verhalten sich die Werte bei oraler Verfütterung der doppelten Galactosemenge (Abbildung 7 c). Hierbei ist jedoch, bedingt durch eine größere Streuung beim Kontrollkollektiv, der Unterschied nicht mehr so deutlich ($p < 0,05$). Für die in Abbildung 7 d dargestellte Enzymaktivität pro 100 g KG sind die Meßwerte aller zur Verfügung stehenden Tiere zusammengefaßt, da die verschiedenen Formen der Galactoseapplikation auf die Galactokinaseaktivität in vitro keinen Einfluß haben können. Dreizehn Werte der mit ANIT vorbehandelten Tiere liegen über dem arithmetischen Mittel der Kontrollen und nur vier darunter ($p < 0,05$). Diese geringfügige Erhöhung zugunsten der Cholestasetiere läßt sich jedoch nicht mehr feststellen, wenn man das Lebergewicht als Bezugsgröße heranzieht (Abbildung 8 d). Eine Erklärung hierfür bietet das gegenüber den Kontrollkollektiven erhöhte relative Lebergewicht (vergl. Tab. 5, 6, 7). Auch die Erhöhung der GEC der ikterischen Tiere ist in Bezug auf das Lebergewicht nicht mehr signifikant (Abb. 8 a). Im Gegensatz dazu erhält man bei Ermittlung der oralen Clearance pro Gramm Lebergewicht (Abb. 8 b, 8 c) ähnliche Ergebnisse wie bei Bestimmung der Clearance pro Kilogramm Körpergewicht (Abb. 7 b, 7 c). Dies und die hohen Werte der ANIT-Tiere weisen darauf hin, daß außer dem enzymatischen Abbau in der Leber noch andere Stoffwechselvorgänge, wie z. B. die enterale Resorption, einen Einfluß auf die orale Clearance haben können.

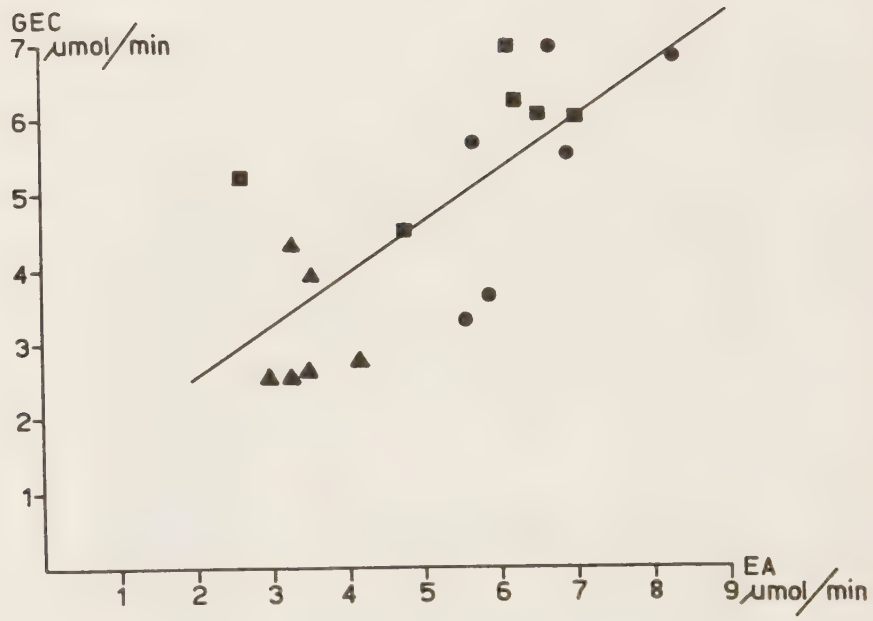
Um für die unten beschriebenen Regressionsgeraden in Abbildung 9 und 10 eine größere Anzahl von verschiedenen Wertepaaren zur Verfügung zu haben, sind in den Tabellen 20 und 21 zusätzlich zu den Daten der Kontroll- und ANIT-Tiere die eines Kollektivs mit einer Galactosaminhepatitis aufgeführt. Diese Werte für die Enzymaktivität *in vitro* und die Galactoseeliminationskapazität *in vivo* bei intravenöser, bzw. die Enzymaktivität *in vitro* und die Clearance *in vivo* bei oraler Belastung entstammen jeweils einem unter den gleichen Meßbedingungen durchgeführten Parallelversuch. Wie der direkte Vergleich von Abb. 9 und 10 ergibt, ist sowohl für die Galactoseeliminationskapazität als auch für die Clearance eine signifikante Korrelation zur Enzymaktivität in der Leber gegeben, jedoch ist ohne weiteres ersichtlich, daß diese für die GEC deutlich besser ist. Die Korrelationskoeffizienten (r) liegen beim Vergleich der Enzymaktivität mit der GEC bei 0,73, beim Vergleich mit der Clearance dagegen nur bei 0,52. Diese bessere Korrelation bei der intravenösen Belastung ($p < 0{,}001$) gegenüber derjenigen bei der oralen Belastung ($p < 0{,}05$) wird auch durch die varianzanalytische Prüfung der Regression bestätigt. Die durch die Regression von y nach x bedingte Varianz liegt im Verhältnis zu der mittleren Restvarianz, also der Varianz von y, nachdem der Einfluß der Streuung von x ausgeschaltet worden ist, bei den intravenös belasteten Tieren deutlich höher als bei den Tieren mit oraler Galactoseapplikation. Dieser Quotient, der identisch mit dem F-Wert ist, unterstützt die Hypothese, daß mit Messen der GEC die Enzymaktivität in der Leber besser abgeschätzt werden kann als durch Bestimmung der oralen Clearance.

Kontrollen		ANIT-Cholestase		GalN-Hepatitis	
EA µmol/min	GEC µmol/min	EA µmol/min	GEC µmol/min	EA µmol/min	GEC µmol/min
6,67	6,94	6,24	6,23	3,24	2,54
8,28	6,80	7,02	6,00	4,16	2,76
6,91	5,51	6,55	6,02	3,26	4,34
5,56	3,32	2,61	5,22	3,53	3,90
5,67	5,67	4,75	4,51	2,98	2,55
5,88	3,65	6,14	6,94	3,44	2,56

Tab. 20 Enzymaktivität der Leber in vitro (EA) und Galactoseeliminationskapazität (GEC) des Kontroll-, ANIT- und Galactosaminkollektivs nach intravenöser Belastung mit 200 mg Galactose.

Kontrollen		ANIT-Cholestase		GalN-Hepatitis	
EA µmol/min	Cl ml/min	EA µmol/min	Cl ml/min	EA µmol/min	Cl ml/min
5,40	1,61	6,80	13,71	6,63	1,68
5,46	2,47	6,24	7,38	2,04	3,17
5,21	2,24	6,93	6,00	4,68	1,54
4,84	1,85	6,01	5,65	2,92	1,97
4,68	2,10	6,08	12,00	4,26	0,80
4,68	2,10	3,55	3,43	1,39	1,33

Tab. 21 Enzymaktivität der Leber in vitro (EA) und orale Clearance (Cl) des Kontroll-, ANIT- und Galactosaminkollektivs nach oraler Belastung mit 200 mg Galactose.



B_0 = 1,17 ± 0,87

B_1 = 0,69 ± 0,16

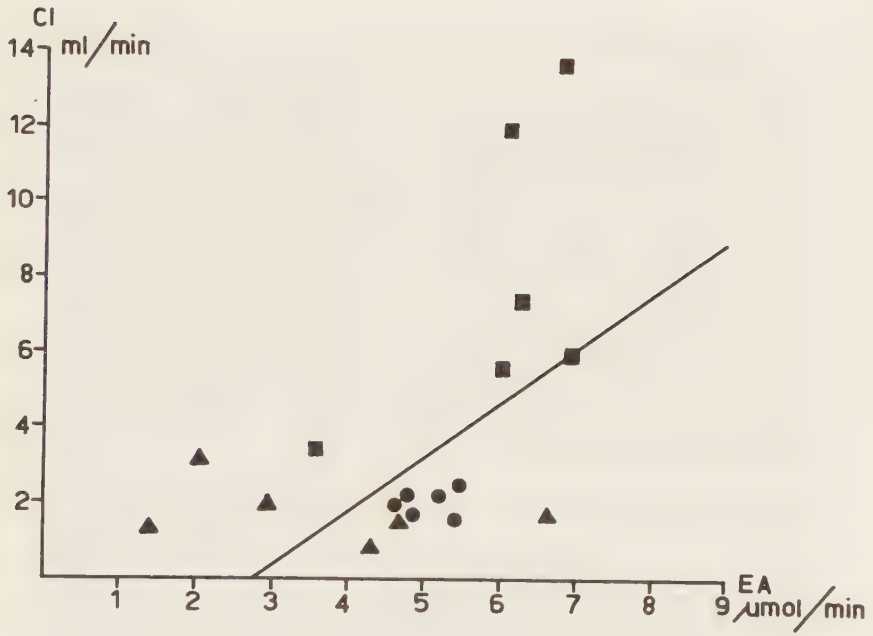
r = 0,73

F = 18,7

p < 0,001

	FG	SQ	MQ
Regr.	1	23,4	23,4
Restv.	16	20,1	1,3
Ges.	17	43,5	2,6

Abb. 9 Beziehung zwischen der Galactoseeliminationskapazität in vivo und der Enzymaktivität des entsprechenden Leberhomogenats in vitro nach intravenöser Belastung mit 200 mg Galactose (Ko ● , ANIT ■ , GalN ▲).



B_0 = -1,99 ± 2,6
B_1 = 1,22 ± 0,5
r = 0,52
F = 5,9
p < 0,05

	FG	SQ	MQ
Regr.	1	62,9	62,9
Restv.	16	170,4	10,6
Ges.	17	233,3	13,7

Abb. 10 Beziehung zwischen der Clearance in vivo und der Enzymaktivität des entsprechenden Leberhomogenats in vitro nach oraler Belastung mit 200 mg Galactose (Ko ●, ANIT ■, GalN ▲).

VI. DISKUSSION

Ziel der vorliegenden Arbeit sollte die Untersuchung sein, ob eine durch ANIT ausgelöste, experimentelle Cholestase bei Ratten eine Veränderung im Galactosemetabolismus, der einen Meßparameter für die metabolische Funktion der Leberzelle darstellt, hervorruft. Außerdem sollte ohne Berücksichtigung besonderer Modellvorstellungen hinsichtlich der Galactosekinetik (2,23,42) nach mehr praktischen Gesichtspunkten geprüft werden, welche Form der Galactosebelastung im Ergebnis der in der Gesamtleber vorhandenen Enzymaktivität am ehesten entspricht. Für den beschriebenen Hauptstoffwechselweg der Galactose in der Leber muß die Aktivität der Galactokinase als geschwindigkeitsbestimmend angesehen werden (9,21).

Bezüglich der Messung der Aktivität dieses Enzyms in vitro, ohne Verwendung radioaktiv markierter Galactose, ließen sich die Grenzkonzentrationen für Substrat- und Produkthemmung einhalten, die für Galactose mit 2 x 10^{-3} M (59) und für Galactose-1-Phosphat mit 10^{-3}M bis 10^{-2}M angegeben sind (9,24). (Wir konnten auch bei einer Galactosekonzentration von 3 x 10^{-3} M noch keine Substrathemmung feststellen.) Da der k_m-Wert für die Galactokinase aus Rattenleber mit 0,15 x 10^{-3}M angegeben ist (9), kann für die vorliegenden Enzymaktivitätsmessungen angenommen werden, daß sie in Substratsättigung erfolgt sind. Die gemessenen Galactokinaseaktivitäten von durchschnittlich 0,8 µmol gebildetes Galactose-1-Phosphat pro Minute und pro Gramm Lebergewicht für erwachsene Kontrolltiere stimmen sehr gut mit dem Ergebnis von WALKER und KHAN (59) überein und erreichen auch die untere Grenze der von CUATRECASAS und SEGAL angegebenen Werte (9).

Die in vivo gefundenen GEC-Werte liegen im Mittel höher als von KEIDING (21) beschrieben, stimmen aber mit denen von VILSTRUP (58) überein. Hinsichtlich der Berechnung der Galactoseeliminationskinetik ist eine von der Blutkonzentration abghängige, renale Galactoseausschei-

dung zu berücksichtigen. Eine Nierenschwelle scheint entweder gar nicht vorhanden (4,47,50), oder nur sehr gering ausgeprägt zu sein (51,60). KEIDING hat die Versuchstiere nephrektomiert, um renale Galactoseverluste zu umgehen (21). Dies war bei unserer Versuchsanordnung nicht möglich, da die Tiere des Parallelversuches aufgrund der Galactosamin-Hepatitis eine schwere Gerinnungsstörung hatten und deshalb der operative Eingriff gering gehalten werden mußte. Außerdem erschien eine Nephrektomie unter dem Aspekt der praktischen Verwertbarkeit der gefundenen Ergebnisse als sehr "unphysiologisch". Eine andere übliche Korrekturmöglichkeit besteht darin, die im Harn ausgeschiedene Galactosemenge zu bestimmen und jeweils für das einzelne Versuchstier von der applizierten Dosis abzuziehen. Dies wurde zunächst versucht, erwies sich jedoch als nicht befriedigend durchführbar, da die Tiere - mit arteriellen und venösen Kathetern versorgt - nicht permanent in Stoffwechselkäfigen gehalten werden konnten und so Harnverluste auftraten.

Bezüglich des Konzentrationsverlaufes der Blutgalactose nach intravenöser Belastung bestehen unterschiedliche Meinungen. Nach einer anfänglichen Verteilungsphase fordert TYGSTRUP aufgrund der vorhandenen Substratsättigung einen linearen Kurvenverlauf und berechnet aus dem Konzentrationsabfall pro Zeiteinheit die GEC (52,54). Erst im Bereich der Untersättigung läßt er wieder einen exponentiellen Verlauf zu. Andere Autoren, vor allem TENGSTRÖM (49), postulieren aufgrund von Verteilungsphänomenen und der Konzentrationsabhängigkeit der renalen Galactoseausscheidung einen exponentiellen Kurvenverlauf und berechnen die Halbwertszeit für Galactose im Blut. Unserer Meinung nach hängt hier eine Entscheidung auch stark von der Wahl des betrachteten Kurvenausschnittes ab. Aufgrund des relativ linearen Verlaufes unserer Eliminationskurven im Sättigungsbereich und auch im Hinblick auf die gewünschte Schätzung einer "quantitativen Leberfunktion" hielten wir die Berechnung der GEC für sinnvoller (53).

Vergleichswerte zu der nach oraler Galactosebelastung berechneten "oralen Clearance", einer Größe, die ebenfalls die maximale Kapazität eines metabolischen Enzymsystems abschätzen soll (44), fanden sich nicht in der vorhandenen Literatur. Für die Berechnung dieser "oralen Clearance", die sich aus der Bildung des Quotienten der applizierten Dosis und der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve ergibt, wurde ebenso wie für die Bestimmung der GEC die für die Urinausscheidung korrigierte Dosis D_{korr} herangezogen.

Hinsichtlich der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ist zu sagen, daß die durch ANIT-Gabe verursachte Cholestase bei Ratten offenbar keinen Einfluß auf die metabolische Aktivität der Galactokinase und die in vivo bestimmte GEC hat. Die leichten Erhöhungen dieser Größen beim ANIT-Kollektiv sind nur bei Bezugnahme auf das Körpergewicht der Versuchstiere festzustellen. Berechnet man die Enzymaktivität und die GEC pro Gramm Lebergewicht, so entfällt dieser geringe Unterschied gegenüber dem Kontrollkollektiv ganz. Diese Tatsache ist wohl auf das erhöhte relative Lebergewicht der kranken Tiere zurückzuführen. Eine Erklärung hierfür würde der durch RICHTER u. Mitarb. (38) beschriebene "pathologische Anabolismus" bei der ANIT-Cholestase bieten.

Die orale Clearance ist hingegen beim ANIT-Kollektiv aufgrund der erniedrigten Galactoseblutspiegel deutlich gegenüber den Kontrolltieren erhöht. Dies ist insofern verwunderlich, als sich die Galactokinaseaktivität in der Leber der gleichen Versuchstiergruppe nicht verändert hat. Gründe hierfür sind nicht bekannt. der von MEHNERT u. Mitarb. beschriebene Einfluß der Magenentleerung auf die Blutspiegelkurve der Galactose (13,30,31) dürfte keine entscheidende Rolle spielen, da kranke und gesunde Tiere jeweils unter gleichen Bedingungen mit gleichen Mengen Galactose belastet wurden. In vorläufigen Versuchen hat sich auch kein Hinweis dafür ergeben, daß Störungen der

Galactoseresorption für diesen Befund verantwortlich sind, obwohl die orale Applikation einer Testsubstanz sicherlich mit einem größeren Unsicherheitsfaktor behaftet ist als die intravenöse Verabfolgung derselben Dosis. Einflüsse der in der Darmwand enthaltenen Galactokinase, deren Aktivität unter den vorhandenen Versuchsbedingungen (nüchterne Tiere 24 Stunden vor Versuchsbeginn) immerhin 20 - 30 % der Aktivität der in der Leber vorhandenen Galactokinase betragen müßte (9,19,48), sind bei der oralen Belastung nicht zu vermeiden. Dies müßte sich aber gleichermaßen auf beide Kollektive auswirken, außer es bestünde ein Einfluß von ANIT oder des dadurch verursachten Leberschadens auf die Galactokinaseaktivität im Darm. Die Frage, ob eine eventuelle Auswirkung der experimentellen Cholestase auf die Leberdurchblutung die unerwartete Erhöhung der oralen Clearance verursacht haben könnte, muß ebenfalls verneint werden, weil diese Größe nur von der metabolischen Enzymaktivität, nicht aber vom Leberblutfluß abhängig ist (44). Es bliebe daher nur noch zu diskutieren, ob ein Teil der oral verabreichten Galactose beim ANIT-Kollektiv durch einen zusätzlich zu dem schon in der Berechnung der oralen Clearance enthaltenen, metabolischen "first pass effect" vorhandenen Prozeß bei der ersten Passage durch die Leber verbraucht wird. Da Galactose auch als Grundsubstanz für Glykolipide und Glykoproteine bekannt ist (7), wäre dies durchaus aufgrund der gesteigerten Proteinsynthese bei der ANIT-Cholestase (38) denkbar.

Die vorliegende, durch einmalige Verabfolgung von ANIT ausgelöste, intrahepatische Cholestase hat somit offenbar keinen Einfluß auf die Aktivität der Galactokinase, eines im Zytosol der Leberzelle enthaltenen (7,22), wichtigen Stoffwechselenzyms. Ob dieser experimentelle Leberschaden generell die metabolische Funktion der Leber verschont und nur die sekretorischen Leistungen mindert (34,43), kann durch eine Galactosebelastung allein nicht belegt werden, ist aber durchaus denkbar.

Die andere Frage in dieser Arbeit war, welche Form der Galactosebelastung die vorhandene Enzymaktivität in der Leber besser abschätzt. Theoretisch sollte sowohl die Berechnung der GEC (53) als auch die Bestimmung der oralen Clearance (26,33,44,61) eine Aussage über die Galactokinaseaktivität erlauben. Die gebildeten Korrelationen zur Enzymaktivität in vitro lassen die GEC hierbei deutlich besser abschneiden als die orale Clearance. Dieses Ergebnis, das auch schon aufgrund der obigen Ausführungen zu vermuten war, wurde auf diese Weise, auch bei Hinzuziehen eines Versuchskollektivs mit einer Galactosamin-Hepatitis, nochmals bestätigt.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, welchen Einfluß eine ANIT-Cholestase auf den Galactosemetabolismus bei Ratten ausübt und welche Form der Galactosebelastung die Enzymaktivität *in vitro* besser abschätzt.

Unter Berücksichtigung des erhöhten relativen Lebergewichts bei Tieren mit ANIT-Cholestase, hatte diese offenbar keinen Einfluß auf die metabolische Aktivität der Galactokinase in der Leber *in vitro* und die bei intravenöser Belastung bestimmte Galactoseeliminationskapazität *in vivo*. Die bei oraler Belastung errechnete Clearance *in vivo* war jedoch bei den ANIT-Tieren deutlich gegenüber den Kontrolltieren erhöht.

Unabhängig davon konnte durch lineare Regression gezeigt werden, daß die GEC deutlich besser mit der Galactokinaseaktivität in der Leber korrelierte als die orale Clearance und daß somit die intravenöse Galactosebelastung zur Abschätzung der funktionierenden Lebermasse als besser geeignet erscheint.

Herrn Professor Dr. med. Ernst RICHTER danke ich für die Oberlassung des Themas und für die wertvolle Unterstützung bei der Bearbeitung.

Herrn Prof. Dr. med. Kurt KOCHSIEK danke ich für die freundliche Obernahme des Korreferates.

Herrn G. HOFSTETTER danke ich für die ausgezeichnete technische Assistenz bei den Tierversuchen.

Allen Laborantinnen im Leberlabor der Medizinischen Universitätsklinik danke ich für die wertvolle Hilfestellung bei technischen Arbeiten.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

1. BALLARD, F.J.:
Kinetic studies with liver galactokinase.
Biochem. J. 101, 70 (1966)

2. BASS, L., KEIDING S., WINKLER K., TYGSTRUP N.:
Enzymatic elimination of substrates flowing through the intact liver.
J. ther. Biol. 61, 393 (1976)

3. BAUER R.:
Über die Assimilation von Galaktose und Milchzucker beim Gesunden und Kranken.
Wien. med. Wschr. 56, 20 (1906)

4. BEYREISS K.:
Quantitative Untersuchungen über den Umsatz von Galaktose Neugeborener, Säuglinge und Erwachsener bei intravenöser Galaktoseinfusion.
Acta biol. med. germ. 27, 125 (1971)

5. BIRCHER J., BLANKART R., HALPERN A., HÄCKI W., LAISSUE J., PREISIG R.:
Criteria for assessment of functional impairment in patients with cirrhosis of the liver.
Europ. J. clin. Invest. 3, 72 (1973)

6. CLODI P.H., STEFENELLI N.:
Gallenfluß, Gallendruck und Bromsulphthaleinausscheidung bei der experimentellen intrahepatischen Cholestase der Ratte.
Z. ges. exp. Med. 142, 1 (1967)

7. COHN R.M., SEGAL S.:
Galactose metabolism and its regulation.
Metabolism 22, 627 (1973)

8. COOPER J.A.D., SMITH W., BACITA M., MEDINA M.:
Galactoseoxidase from poliporus circinatus.
J. biol. Chem. 234, 445 (1959)

9. CUATRECASAS P., SEGAL S.:
Mammalian galactokinase.
J. biol. Chem. 240, 2382 (1965)

10. EL-HAWARI A.M., PLAA G.L.:
Alpha-Naphthylisothiocyanate hepatotoxicity and irreversible binding to rat liver microsomes.
Biochem. Pharmac. 26, 1857 (1977)

11. ELIAKIM M., EISNER M., UNGAR H:
Experimental intrahepatic obstructive jaundice following ingestion of α-naphthylisothiocyanate.
Bull. Res. Counc. of Israel 8 E , 7 (1959)

12. FÖRSTER H., HASLBECK M., MEHNERT H.:
Untersuchungen an Gesunden und an leberkranken Patienten nach intravenöser und oraler Galaktosebelastung.
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 73, 245 (1967)

13. FÖRSTER H., MEHNERT H., STUHLFAUTH K., MEHNERT B., TAMMEN H., BAILER P.:
Vergleichende Untersuchungen zur Resorption von Glucose, Galactose und Lactose am Menschen und an der Ratte.
Klin. Wschr. 41, 549 (1963)

14. GALLENKAMP H.:
Arzneimittelmetabolismus bei experimentellen Leberschäden.
Habilitationsschrift, Würzburg (1978)

15. GITZELMANN R.:
D-Galactose-1-Phosphat-Bestimmung als Galactose nach Phosphatabspaltung.
In: Bergmeyer: Methoden der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie, Weinheim/Berstr. 1337 (1970)

16. GOLDFARB S., SINGER E.J., POPPER H.:
Experimental cholangitis due to α-naphtylisothiocyanate (ANIT)
Am. J. Pathol. 40, 685 (1962)

17. HENNECKE A., KÖNIG K.J., SODHOF H.:
Oraler Galaktosetoleranztest bei Leberkrankheiten.
Deutsche Med. Wschr. 97, 109 (1972)

18. HERI M., BIRCHER J.:
Die Galaktose-Eliminationskapazität, ein zuverlässiger Test zur quantitativen Erfassung der Leberfunktion.
Schw. med. Wschr. 101, 735 (1971)

19. HERMAN R.H.:
Hydrolysis and absorption of carbohydrates and adaptive responses of the jejunum.
In: H.L. Sepple, K.W. McNutt (Hrsg.) Sugars in Nutrition.
The Nutrition Foundation. Academic Press New York, 145 (1974)

20. JÄKEL L., GRÖN E.:
Bestimmung, Eigenschaften und postnatale Entwicklung der Galaktokinase in der Schweineleber.
Acta biol. med. germ. 36, 1035 (1977)

21. KEIDING S.:
Galactose elimination capacity in the rat.
Scand. J. clin. lab. Invest. 31, 319 (1973)

22. KEIDING S., ANDREASEN P.B., FAUERHOLDT L.:
Effect of phenobarbital induction on galactose elimination capacity in the rat.
Biochem. Pharmac. 22, 2293 (1973)

23. KEIDING S., CHIARANTINI E.:
Effect of sinusoidal perfusion on galactose elimination kinetics in perfused rat liver.
J. Pharmacol. exp. Ther. 205, 465 (1977)

24. KEIDING S., JOHANSEN S., TØNNESEN K.:
Kinetics of ethanol inhibition of galactose elimination in perfused pig liver.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 37, 487 (1977)

25. KEIDING S., JOHANSEN S., WINKLER K., TØNNESEN K., TYGSTRUP N.:
Michaelis-Menton kinetics of galactose elimination by the isolated perfused pig liver.
Am. J. Physiol. 230, 1302 (1976)

26. KORNHAUSER D.M., WOOD A.J.J., VESTAL R.E., WILKINSON G.F., BRANCH R.A., SHAND D.G.:
Biological determinants of propranolol disposition in man.
Clin. Pharmacol. Ther. 23, 165 (1978)

27. KURZ G., WALLENFELS K.:
D-Galactose. UV-Test mit Galactose-Dehydrogenase.
Bergmeyer, Methoden der enzymat. Analyse. Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr., 1324 (1970)

28. MAAZ E., HOFFRICHTER E.:
Über den Wert verschiedener Modifikationen des oralen Galaktosetoleranztests als Leberfunktionsprobe.
Ztschr. inn. Med. 27, 554 (1972)

29. McLEAN M.R., REES K.R.:
Hyperplasia of bile ducts induced by α-naphtyl-isothiocyanate: experimental biliary cirrhosis free from biliary obstruction.
J. Path. Bact. 76, 175 (1958)

30. MEHNERT H., FÖRSTER H., MEHNERT B., v. KUTZSCHENBACH B., THÜRING J., ARBOGAST K.:
Vergleichende Untersuchungen zur Resorption von Glucose, Galaktose und Lactose am Menschen und an der Ratte.
Klin. Wschr. 41, 540 (1963)

31. MEHNERT H., FÖRSTER H., STUHLFAUTH K., MEHNERT B., OESER K., LANGER M.:
Vergleichende Untersuchungen zur Resorption von Glucose, Galaktose und Lactose am Menschen und an der Ratte.
Klin. Wschr. 41, 544 (1963)

32. MEHNERT H., HASLBECK M., FÖRSTER H.:
Über den Wert der Galaktosebelastungsprobe bei enzymatischer Bestimmung der Galaktose im Blut.
Deutsche med. Wschr. 93, 1899 (1968)

33. PESSAYRE D., LEBREC D., DESCATOIRE V., PEIGNOUX M., BENHAMOU J.P.:
Mechanism for reduced drug clearance in patients with cirrhosis.
Gastroenterology 74, 566 (1978)

34. PLAA G.L.:
Functional aspects of the cholestasic response induced by ANIT in mice and rats.
Agents and Actions 1, 22 (1969)

35. PLATT D., SCHNORR B.:
Ultrastrukturelle Veränderungen der Rattenleber nach Gabe von 1-Naphthyl-Isothiocyanat (ANIT)
Acta Hepato-Gastroenterol. 19, 356 (1972)

36. POPPER H., SCHAFFNER F.:
Pathophysiology of cholestasis.
Human Pathology 1, 1 (1970)

37. RANEK L., ANDREASEN P.B., TYGSTRUP N.:
Galactose elimination capacity as a prognostic index in patients with fulminant liver failure.
Gut 17, 959 (1976)

38. RICHTER E., GRON M., KÖHN H.A.:
Proteinsynthese und Ikterus bei der ANIT-Cholestase der Ratte.
Verh. dtsch. Ges. Inn. Med. 75, 367 (1969)

39. ROBERTS R.J., PLAA G.L.:
Potentiation and inhibition of α-naphtylisothiocyanate induced hyperbilirubinemia and cholestasis.
J. Pharmacol. exp. Ther. 150, 499 (1965)

40. ROMMEL K., BERNT E., SCHMITZ F., GRIMMEL K.:
Enzymatische Galaktosebestimmung im Blut und oraler Galaktose-Toleranztest.
Klin. Wschr. 46, 936 (1968)

41. ROMMEL K., GRIMMEL K.:
Oraler Galaktosetoleranztest. Diagnostische Kriterien und biologische Streuung bei Lebergesunden und Leberkranken.
Med. Klinik 61, 1735 (1966)

42. ROWLAND M., BENET L.Z., GRAHAM G.G.:
Clearance concepts in pharmacokinetics.
J. Pharmacokin. Biopharm. 1, 123 (1973)

43. SCHAFFNER H., SCHARNBECK H., HUTTERER F., DENK H., GREIM H.A., POPPER H.:
Mechanism of cholestasis: VII α-naphtylisothiocyanate induced jaundice.
Lab. Invest. 28, 321 (1973)

44. SCHAND D.G., KORNHAUSER D.M., WILKINSON G.R.:
Effects of route of administration and blood flow on hepatic drug elimination.
J. Pharm. Exp. Ther. 195, 424 (1975)

45. SHERMAN J.R.:
Rapid enzyme assay technique utilizing radioactive substrate, ion-exchange paper, and liquid scintillation counting.
Analytical biochemistry 5, 548 (1963)

46. SHERMAN J.R., ADLER J.:
Galactokinase from Escherichia coli.
J. Biol. Chem. 238, 873 (1963)

47. SMITH G.W., HULBANNI S.V.:
Hepatic Galactose metabolism after side-to-side portocaval shunt.
J. Burg. Res. 15, 163 (1973)

48. STIFEL F.B., HERMAN R.H., ROSENZWEIG N.S.:
Dietary regulation of galactose-metabolizing enzymes: adaptive changes in rat jejunum.
Science 162, 692 (1968)

49. TENGSTRÖM B.:
An intravenous galactose tolerance test with an enzymatic determination of galactose. A comparison with other diagnostic aids in hepatobiliary diseases.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 18, 132 (1966)

50. TENGSTRÖM B.:
Studies on the turnover of galactose in man with special reference to its renal and hepatic elimination.
Acta Univ. Upsaliensis

51. TYGSTRUP N.:
The urinary excretion of galactose and its significance in clinical intravenous galactose tolerance tests.
Acta physiol. scand. 51, 263 (1961)

52. TYGSTRUP N.:
Determination of the hepatic galactose elimination capacity after a single intravenous injection in man.
Acta physiol. Scand. 58, 162 (1963)

53. TYGSTRUP N.:
Determination of the hepatic elimination capacity (Lm) of Galactose by single injection.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 18, 118 (1966)

54. TYGSTRUP N., WINKLER K.:
Kinetics of galactose elimination.
Acta Physiol. Scand. 32, 354 (1954)

55. TYGSTRUP N., WINKLER K.:
Galactose blood clearance as a measure of hepatic blood flow.
Clin. Science 17, 1 (1958)

56. v. UEXKÜLL T.:
Über den diagnostischen Wert der Blutzuckerkurve nach peroraler Galaktosebelastung.
Dtsch. med. Wschr. 11, 415 (1939)

57. UNGAR H., POPP J.A.:
Acute cholecystitis and persistent liver necrosis in mice provoked by isothiocyanate.
Arch. Pathol. Lab. Med. 100, 127 (1976)

58. VILSTRUP H.:
The galactose elimination capacity as a quantitative measure of liver function in acute carbon tetrachloride intoxication of rats.
Europ. J. clin. Invest. 8, 317 (1978)

59. WALKER D.G., KHAN H.H.:
Some properties of galactokinase in developing rat liver.
Biochem. J. 108, 169 (1968)

60. WELCH J.P., PARBHOO S.P.:
Galactose elimination capacity in the intact and isolated pig liver.
Surgery 74, 708 (1973)

61. WILKINSON G.R., SHAND D.G.:
A physiological approach to hepatic drug clearance.
Clin. Pharmacol. Therap. 18, 377 (1975)

LEBENSLAUF

Am 27. Mai 1955 wurde ich als einziges Kind des Elektromeisters Herbert SEIFERT und seiner Ehefrau Elfriede SEIFERT, geb. Rutzki, in Selb geboren.

Ab 1961 besuchte ich die Volksschule in Selb und ab 1965 das Gymnasium Selb. Im Februar 1970 trat ich in das Otto-Hahn-Gymnasium Marktredwitz über, wo ich am 22. Juni 1974 die Reifeprüfung bestand.

Im Wintersemester 1974/75 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Würzburg, wo ich im Sommer 1976 das Physikum, im Sommer 1977 den 1. Teil des Staatsexamens und im Sommer 1979 den 2. Teil des Staatsexamens ablegte.

Anschließend folgte meine Tätigkeit im Praktischen Jahr an der Neurologischen Universitätsklinik Würzburg, der Medizinischen Universitäts-Poliklinik Würzburg und im Juliusspital Würzburg.

Am 15. Mai 1981 beendete ich mein Studium mit dem letzten Teil des Staatsexamens in Würzburg.

Am 2o.o5.81 erhielt ich die Approbation als Arzt.

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80